PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

44. BAND, 4. HEFT

MIT 43 TEXTABBILDUNGEN
IN 107 EINZELFIGUREN

(ABGESCHLOSSEN AM 30. OKTOBER 1954)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1954

Planta (Berl.)

Preis DM 23.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an *Professor Dr. Otto Renner*, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W.1

44. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 4. Heft

Seite

Frank, H., Über den Stickstoffverlust bei alternden Pflanzen. Mit 10 Textabbildungen 319

Bartels, P., Quantitative mikrospektroskopische Untersuchung der Speicherungs- und Permeabilitätsverhältnisse akridinorangegefärbter Zellen. Mit 10 Textabbildungen 341

Haider, K., Zur Morphologie und Physiologie der Sporangien leptosporangiater Farne. Mit 11 Textabbildungen (75 Einzelfiguren) 370

Ochs, G., Zur Wirkungsweise des Wuchsstoffes auf das Streckenwachstum der Wurzel. Mit 12 Textabbildungen 412

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 44, S. 319—340 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ÜBER DEN STICKSTOFFVERLUST BEI ALTERNDEN PFLANZEN*.

Von

HANNS FRANK.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juni 1954.)

I. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Fragen des Stickstoffhaushaltes der Pflanze in Abhängigkeit vom absoluten Alter, d. h. vom Alter des betreffenden Individuums. Jedoch soll nicht die Assimilation behandelt werden, sondern nur der Lebensabschnitt, der bereits im Zeichen eines augenfälligen Zusammenbruches der inneren chemischen Organisation steht. Diese Erscheinung tritt besonders bei hapaxanthischen Einjährigen, aber auch Mehrjährigen *(Agave)* hervor; bei diesen fällt der Zusammenbruch mit dem Blühen zeitlich zusammen, so etwa bei den Getreidearten, die in dieser Hinsicht am besten untersucht sind. Nach außen hin tut sich dies in erster Linie durch ein fortschreitendes Absterben der vegetativen Teile kund. Gleichzeitig findet aber eine völlige Stillegung der Stickstoffaufnahme durch die Wurzel statt (vgl. WILFARTH, RÖMER und WIMMER 1905). MOTHES und ENGELBRECHT (1952, S. 2) berichten sogar, daß bei *Agave* z. B. dem Absterben der Blätter, die zu Beginn der generativen Phase alle Zeichen des Eiweißmangels aufweisen, durch die Entfernung der Blüten oder der bereits vergilbenden Blätter kein Einhalt geboten werden kann. Generell gilt das aber für die Hapaxanthischen nicht, wie auch MOTHES und ENGELBRECHT betonen; so konnte bei *Arabidopsis thaliana* von uns selbst beobachtet werden, daß normal wachsende Pflanzen nach der Reife der Samen in einem Alter von 110 Tagen abstarben, solche hingegen, deren Blütensprosse laufend entfernt wurden, erst nach etwa 230 Tagen eingingen.

Nach dem bisher Gesagten wäre zu erwarten, daß der Stickstoffgehalt in der Pflanze nach Einstellung der Aufnahme N-haltiger Ionen aus dem Boden bis zum Tode konstant bliebe. Das ist aber nicht der Fall. Übereinstimmend fanden eine ganze Reihe von Autoren, daß mit dem Blühen eine rapide Abnahme des Gesamtstickstoffes einsetzte. Diese Abnahme oder Zehrung, wie sie im weiteren genannt werden soll,

* Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

findet ihr Äquivalent *nicht* in dem Verlust an Pollen oder an Früchten, die bei Feldversuchen, um die es sich hier meist handelte, nie quantitativ geerntet werden konnten. So schrieben WILFARTH und Mitarbeiter bereits 1905 nach ihren Versuchen mit Gerste: „Es bleibt also keine andere Annahme übrig, als daß sich der N infolge noch nicht geklärter Zersetzungsprozesse aus der Pflanze verflüchtigt oder wieder in den Boden zurückgelangt." Gleiche Ergebnisse finden sich an den verschiedensten Stellen der Literatur, so bei BURD (1919), PENSTON (1934), VAN ITALLIE (1937), LOEHWING (1938), ALLISON und Mitarbeiter (1948), MOTHES (1931, 1938 und 1952), VIRTANEN (1953), POWELL und STRANGE (1953) u. a., jedoch scheint niemand über die von WILFARTH und Mitarbeiter angedeutete Alternative hinausgekommen zu sein.

Im folgenden soll die Frage der Stickstoffzehrung betrachtet werden. An verschiedenen Objekten wurden eigene Erfahrungen darüber gesammelt, ob ein Verlust an Stickstoff eintritt. Im weiteren sollten dann die beiden aufgezeigten Möglichkeiten für die Art und Weise des Verlustes geprüft werden.

II. Die Stickstoffzehrung im letzten Teile der Vegetationsperiode.

Die erste Frage war also die quantitative Erfassung der N-Zehrung im letzten Teile der Vegetationsperiode. Hierzu wurden zwei Versuchspflanzen ausgewählt.

1. *Arabidopsis thaliana*, die sich wegen ihrer raschen Entwicklung, ihrer Anspruchslosigkeit und ihrer Kleinheit als geeignetes Objekt anbot (vgl. LAIBACH 1943). Das Samenmaterial wurde in freundlicher Weise von Herrn Prof. MOTHES aus Gatersleben geschickt.

2. *Oenothera suaveolens*, Sippe Fünfkirchen, aus Kulturen von Herrn Dr. STUBBE am hiesigen Institut, wurde in zwei Varianten (*xanthodermis*-Variante und Kurztag-Variante = k-Variante) in Töpfen gezogen und analysiert. Bei diesen Versuchen stellte sich die große Überlegenheit erblich einwandfrei definierten Materials gegenüber erbungleichem für derartige physiologische Fragestellungen heraus: die Streuung innerhalb der einzelnen Analysenreihen betrug bei *Arabidopsis* etwa 11%, während sie bei dem genetisch einheitlichen Material von *Oenothera* nur etwa 5% ausmachte.

1. Versuchsanstellung bei Arabidopsis thaliana.

Die Samen von *Arabidopsis* wurden in einer Keimschale unter Glas angezogen und am 12. 12. 52 einzeln in 200 kleine Blumentöpfe von 5 cm Weite pikiert. Diese Töpfe wurden dann auf einem Tisch im Gewächshaus in einer etwa 4 cm tiefen Torfmullschicht aufgestellt. 1 m darüber hing eine Gasentladungsröhre (Typ: OSRAM 202, 40 Watt, 120 cm lang). Diese zusätzliche Lichtquelle wurde täglich durch eine Schaltuhr mit Einbruch der Dämmerung in Betrieb gesetzt und brannte bis 24 Uhr.

Am 28. 1. 53 wurden die ersten Pflanzen geerntet. Alle 5 Tage wurden 10 gleichmäßig entwickelte Exemplare ausgesucht, die Wurzeln zunächst trocken und dann naß vorsichtig von der anhaftenden Erde befreit, hierauf einzeln das Frischgewicht ermittelt und anschließend bei 90° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Solange die Pflanzen klein waren, wurden sie im ganzen verarbeitet, später in Blütensproß und Rosette mit Wurzel getrennt in zwei Arbeitsgängen gewogen und analysiert. Die Ernte wurde immer am Vormittag um 10 Uhr durchgeführt und die Trocknung sofort nach der ersten Wägung begonnen, um tageszeitliche Schwankungen auszuschalten und einen Verlust bei langsamem Absterben zu vermeiden.

2. Methode der Stickstoffbestimmung.

Die quantitative Bestimmung des Gesamtstickstoffs wurde zum Teil nach der Methode von KJELDAHL mit der Parnas-Wagner-Apparatur vorgenommen. Zu Beginn der Versuche aber, als die Pflanzen noch relativ klein waren und daher der Stickstoffgehalt unter dem Bereich brauchbarer Genauigkeit dieser Methode lag, wurde das Mikrodiffusionsverfahren nach CONWAY (1947) angewendet. Da sich dieses Verfahren, das sehr genau und einfach in der Ausführung ist, eigenartigerweise in Deutschland noch nicht Eingang verschafft hat, soll es hier kurz beschrieben werden. In England ist es fast ausschließlich üblich.

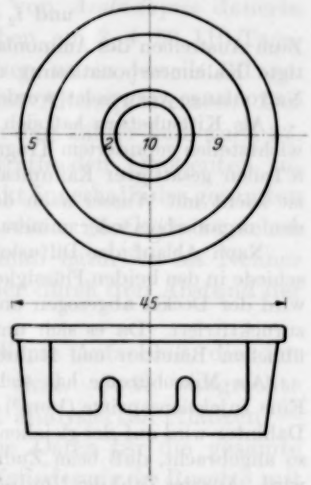

Abb. 1. Mikrodiffusionsgefäß. „Conway unit" Nr. 2. Maße in mm. 3/4 der natürlichen Größe.

Der Ablauf der chemischen Vorgänge ist im Prinzip der gleiche wie bei der Wasserdampfdestillation nach KJELDAHL. Es wird in kleinen Gefäßen aufgeschlossen, bis die Schwefelsäure klar ist. Als Aufschlußgefäße wurden stets Röhrchen aus Geräteglas verwendet, die einen Durchmesser von 10 mm und eine Länge von 40—50 mm hatten. Die Veraschung geschah bei schräg stehenden Röhrchen unter Zusatz von Selenreaktionsgemisch von Merck auf dem Sandbad.

Die klare und erkaltete Schwefelsäure wird nun in das Mikrodiffusionsgefäß gespült. Die Gefäße (Abb. 1) werden von der Firma Gallenkamp in London hergestellt, sind aber jetzt schon in einigen Geschäften in Deutschland erhältlich. Es handelt sich dabei um runde Schalen aus Pyrexglas mit einer 4 mm starken Wandung, 33 mm lichter Weite und 10 mm Tiefe. In der Mitte befindet sich eine ringförmige Erhebung von 6 mm Höhe; dadurch werden zwei getrennte Räume geschaffen, ein innerer kreisförmiger und ein äußerer ringförmiger. Der obere Rand des Gefäßes ist plan geschliffen und wird mit einem einseitig mattierten, quadratischen Glasdeckel von 45 mm Kantenlänge verschlossen.

Die Handhabung der „units", wie die Gefäße in der englischen Literatur heißen, ist denkbar einfach. Der Aufschluß wird quantitativ in das äußere Ringgefäß gespült. Sodann wird in das innere die eingestellte Säure pipettiert (0,2—0,3 ml) und der Deckel, der auf der mattierten Seite mit einer neutralen oder besser alkalisch reagierenden Kittsubstanz bestrichen ist, aufgeklebt. Von einer Seite her

schiebt man ihn nun so weit auf, daß die Pippetenspitze gerade eingeführt werden kann, und läßt 50%ige Kalilauge zufließen, bis der ganze Aufschluß basisch geworden ist. Nun wird der Deckel rasch geschlossen. Dabei ist zu beachten, daß er überall gut aufliegt und nirgends Luftblasen auf dem Rand zu sehen sind.

Die Zeit, in der das Ammoniak in die Säure zu 99,5% eindiffundiert, errechnet sich nach einer von CONWAY mitgeteilten Formel, die aber hier nicht näher abgeleitet zu werden braucht. Für die Praxis genügt es, wenn man sich an die empirisch ermittelten Werte hält. Diese ergeben, wenn t die gesuchte Diffusionszeit in Minuten und a die Tiefe der Flüssigkeit im äußeren Gefäß in Zentimetern ist:

$$t_1 = 1880\ a^2 \text{ (min)} \quad \text{bei } 20^0$$
$$\text{und } t_2 = 1230\ a^2 \text{ (min)} \quad \text{bei } 38^0.$$

Zum Austreiben des Ammoniaks kann neben der erwähnten Kalilauge auch gesättigte Kaliumcarbonatlösung oder gesättigte Kaliummetaboratlösung, *nicht* aber Natronlauge verwendet werden.

Als Kittsubstanz hat sich eine von CONWAY angegebene Mischung aus 3 Gewichtsteilen gepudertem Tragantgummi, 11 Teilen Wasser, 15 Teilen Glycerin und 8 Teilen gesättigter Kaliumcarbonatlösung als vorteilhaft erwiesen. Diese Masse ist leicht mit Wasser nach dem Gebrauch zu entfernen, ganz im Gegensatz zu den organischen oder mineralischen Fetten.

Nach Ablauf der Diffusionszeit, die wegen der großen Konzentrationsunterschiede in den beiden Flüssigkeitsräumen nicht zu weit überschritten werden sollte, wird der Deckel abgezogen und in der üblichen Weise die Säure gleich im „unit" zurücktitriert. Da es sich um sehr kleine Mengen handelt, kann nicht mit den üblichen Büretten und Rührern gearbeitet werden.

Als Mikrobürette hat sich folgende einfache Anordnung sehr gut bewährt: Eine Injektionsspritze (1 cm^3) wird auf einem Holzklötzchen abnehmbar befestigt. Dahinter wird auf der gleichen Basis eine Mikrometermeßschraube ohne den Bügel so angebracht, daß beim Zudrehen der Spindel der Kolben nach vorne gedrückt wird. Aus der Zahl der Umdrehungen, die an der Schraube abgelesen werden kann, läßt sich nach Eichung leicht das Volumen der ausgeflossenen Lauge errechnen. Eine lange, vorne rechtwinklig abgebogene Kanüle dient als Bürettenspitze, die in die Säure eintaucht, um eine Tropfenbildung zu verhindern. Die ganze Apparatur wird waagrecht an einem Stativ befestigt.

Als Rührwerk ist ein mit einem Akkumulator betriebener Trix-Motor, der über eine Schnurtransmission einen kleinen Platinpropeller bewegt, geeignet. Die „units" werden von unten mit einer Zahnstange an den Rührer und die Bürettenspitze herangeschraubt.

Als Indicator bewährt sich eine Mischung aus 9 Teilen Methylrot und einem Teil Methylenblau in 80%igem Alkohol gut, da sein Umschlag schon bei p_H 5,4 liegt. Die Wirkung des Kohlendioxydes der Luft macht sich in diesem Bereich noch nicht merklich geltend, so daß nicht in Stickstoffatmosphäre gearbeitet zu werden braucht (vgl. LUX 1949). Der Farbwechsel erfolgt sehr scharf von Purpurrot nach Grün.

Mit dieser Methode können unter Verwendung von n/500 Säure Stickstoffmengen von 2 γ noch genau erfaßt werden. Mit n/60 Säure liegt der Arbeitsbereich etwa zwischen 10 und 65 γ je Probe.

Für große Mengen Stickstoff — bei *Oenothera* — wurde eine Makrokjeldahl-Apparatur verwendet, wie sie die Firma Bender u. Hobein in München für Brauereien herstellt. Die Aufschließkolben hatten ein Fassungsvermögen von 500 ml. Als Vorlage diente n/10 Schwefelsäure, die mit n/10 Natronlauge unter Zugabe des oben beschriebenen Kontrastindicators zurücktitriert wurde.

3. Ergebnis.

Da die bisher in der Alterungsforschung übliche Art, über ein gewisses Alter des untersuchten Individuums mit dem Datum oder mit dem soundsovielten Tage der Kulturdauer zu berichten, nicht besonders glücklich erschien, wurde hier ein neuer Weg beschritten. Der zu betrachtende Zeitpunkt wurde durch einen Bruch ausgedrückt, der auf einen Blick über die Lage dieses Punktes im Gesamtleben Aufschluß gibt; er wurde „Altersquotient" genannt. Als Beispiel sei der hier in Frage kommende Fall gewählt: Die Kultur von *Arabidopsis* dauerte vom Pikieren am 12. 12. 52 bis zum Absterben am 3. 4. 53 110 Tage. Die Abstände zwischen den einzelnen Analysen waren jeweils 5 Tage. 110:5 = 22; 22 wurde damit zum Nenner des Altersquotienten. Der Absterbepunkt wurde gleich 1 gesetzt, d. h. in den Zähler kam auch 22. Bei Nennung eines Ergebnisses mit dem betreffenden Quotienten zusammen wird sofort ersichtlich, wo dieser Punkt innerhalb des gesamten Lebens liegt. Aus Abb. 2 dürfte der Vorteil dieser Methode zu sehen sein. Bei relativ kurzer Lebensdauer kann man natürlich als Nenner direkt die Zahl der Tage einsetzen, ohne vorher durch den Abstand der Einzelanalysen zu dividieren.

Die Tabelle 1 gibt über die einzelnen Werte Aufschluß, die den verschiedenen Altersquotienten zugeordnet sind. Jede waagrechte Spalte zeigt die Mittelwerte von je 10 getrennt analysierten Pflanzen. — Das erste große senkrechte Feld enthält die Daten für die gesamte Pflanze, die beiden nächsten Felder eine Aufgliederung in Rosette mit Wurzel und in den Blütensproß.

In der folgenden Zusammenstellung sind die Zustände der Versuchspflanzen bei den einzelnen Daten näher charakterisiert:

9/22	Noch nicht geschoßt, 13 Blätter	28. 1. 53
10/22	Beginn des Schossens, 16 Blätter	2. 2. 53
11/22	Höhe des Blütensprosses 5,7 cm, 18 Blätter	7. 2. 53
13/22	Beginnende Verzweigung des Blütensprosses, Höhe: 14,3 cm; Blattzahl: 22	13. 2. 53
14/22	Reiche Fruchtbildung, erste Früchte beginnen zu vergilben. Starke Verzweigung der Blütensprosse. Höhe: 20,5 cm; 25 Blätter	23. 2. 53
15/22	Einzelne reife Früchte. Höhe: 31 cm; Blattzahl: 27 .	27. 2. 53
16/22	Etwas mehr reife Früchte. Höhe: 33 cm; Blattzahl: 27 (Blattläuse)	4. 3. 53
17/22	Höhe: 35 cm; Blattzahl: 32	9. 3. 53
18/22	Höhe: 36 cm; Blattzahl: 30	14. 3. 53
19/22	Beginnende Vergilbung einzelner Blätter. Höhe: 37 cm; Blattzahl: 30	19. 3. 53
20/22	Vergilbend. Höhe: 36 cm; Blattzahl: 24.	24. 3. 53
21/22	Blütensprosse teilweise schon ausgetrocknet. Höhe: 39 cm; Blattzahl: 20	29. 3. 53
22/22	Pflanzen schon weitgehend ausgetrocknet. Fast alle Blätter vergilbt. Höhe: 39 cm; Blattzahl: 15	3. 4. 53

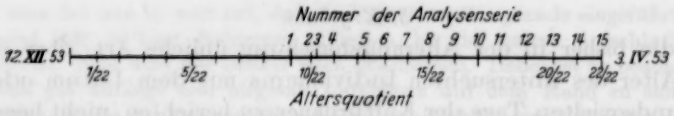

Abb. 2. Schema zur Bildung des Altersquotienten für das Beispiel von *Arabidopsis*.

Abb. 3. Frischgewicht (ausgezogene Linie) und Trockengewicht (gestrichelte Linie) bei *Arabidopsis*. Prozentualer Wassergehalt punktiert.

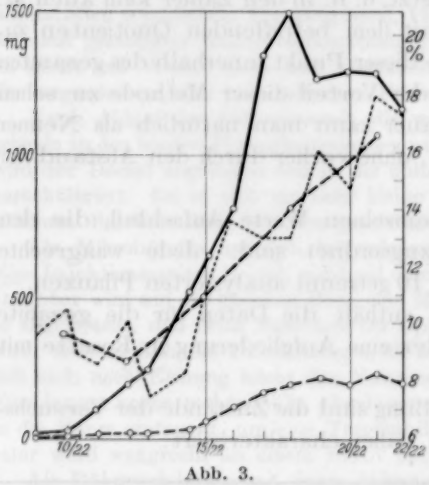

Abb. 3.

Abb. 4. Absoluter N-Gehalt bei *Arabidopsis*. Ausgezogene Linie: ganze Pflanze; gestrichelt: Blütenspreß; punktiert: Rosette mit Wurzel.

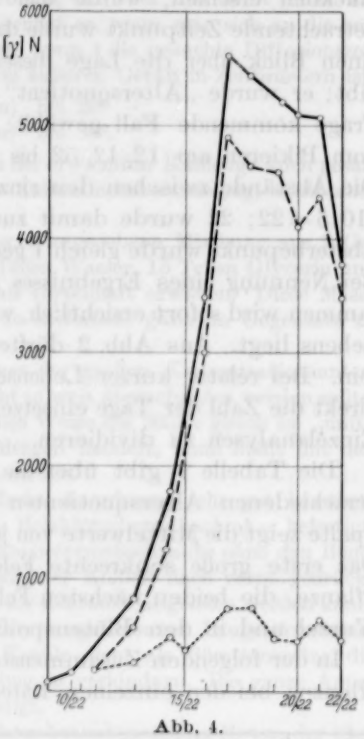

Abb. 4.

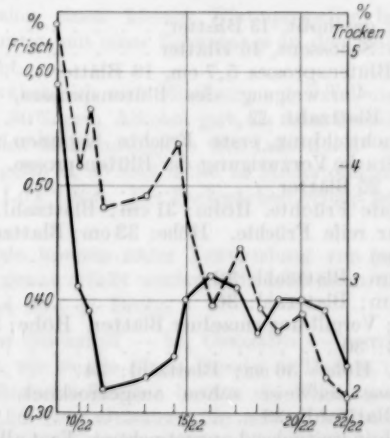

Abb. 5. Prozentualer N-Gehalt bei *Arabidopsis*, bezogen auf das Frischgewicht (ausgezogen) und bezogen auf das Trockengewicht (gestrichelt).

Die Auswertung der Einzelergebnisse gab nun folgendes Bild: Sowohl das Frischgewicht (Abb. 3) wie auch der absolute Stickstoffgehalt (Abb. 4) zeigten einen raschen Anstieg während der Wachstumsperiode, wie zu erwarten. Anders verhielt sich der prozentuale Stickstoffgehalt (Abb. 5); er zeigt mehr oder weniger deutlich absteigende Tendenz. Auch dies war nicht überraschend, da die Trockenmasse, wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, laufend zunahm und in den sich entwickelnden Samen eine große Menge von Fetten (im Embryo) und Kohlenhydraten (in den Schalen) festgelegt wurde. Gelegentliche Schwankungen (Teilmaxima und -minima) in den Kurven dürften in erster Linie auf die zur physiologischen Schwankungsbreite immer noch relativ geringe Zahl von Einzeluntersuchungen zurückzuführen sein, da kein reinerbiges Material verwendet worden war (z. B. Abb. 3 bei 19/22, Abb. 5 bei 11/22, 18/22 und 20/22, Abb. 6 bei 15/22 und 18/22). Bemerkenswert war aber der erneute Anstieg des prozentualen Stickstoffgehaltes (Abb. 5)

Tabelle 1. *N-Gehalt, Frisch- und Trockengewicht bei Arabidopsis im Verlauf des gesamten Lebens.* Erläuterung im Text.

Alters-quotient	Nr.	Datum	Ganze Pflanze							Rosette und Wurzel			Blütensproß		
			Frisch	Trocken	H_2O	H_2O	γ N	Frisch	Trocken	γ N	Frisch	Trocken	γ N	Frisch	Trocken
			mg	mg	mg	%		%-N	%-N		%-N	%-N		%-N	%-N
9/22	1.	28. 1. 53	14,7	1,4	13,2	90	61,6	0,59	5,23						
10/22	2.	2. 2. 53	37,1	3,9	33,2	90	156,9	0,41	4,18						
	3.	4. 2. 53	64,9	5,8	58,2	91	249,8	0,39	4,54						
11/22	4.	7. 2. 53	116,2	10,1	106,1	92	368,6	0,32	3,64	186,2	0,30	3,32	191,3	0,36	4,13
	5.	13. 2. 53	211,3	21,1	190,2	91									
13/22	6.	16. 2. 53	251,0	18,5	232,5	92	796,6	0,33	3,73	250,9	0,31	3,30	564,0	0,34	3,73
14/22	7.	23. 2. 53	502,7	42,4	460,3	92	1760,3	0,35	4,19	471,5	0,35	3,74	1288,8	0,36	4,00
15/22	8.	27. 2. 53	612,4	68,8	543,6	88	2407,6	0,40	3,56	344,6	0,29	2,36	2063,0	0,44	3,91
16/22	9.	4. 3. 53	806,3	110,0	696,3	86	3482,0	0,42	2,76	534,8	0,38	2,09	2996,0	0,47	3,73
17/22	10.	9. 3. 53	1342,7	174,8	1167,8	87	5618,0	0,41	3,26	715,7	0,35	1,86	4901,0	0,43	3,64
18/22	11.	14. 3. 53	1486,6	194,4	1292,2	85	5380,5	0,37	2,79	740,5	0,26	1,40	4640,0	0,40	3,40
19/22	12.	19. 3. 53	1260,8	199,6	1061,2	84	5076,0	0,40	2,54	459,6	0,31	1,24	4616,0	0,42	2,88
20/22	13.	24. 3. 53	1295,0	189,0	1106,0	84	5066,0	0,40	2,70	442,0	0,33	1,55	4118,0	0,41	2,98
21/22	14.	29. 3. 53	1283,2	234,4	1048,8	81	5009,6	0,39	2,11	641,6	0,31	1,20	4368,0	0,40	2,50
22/22	15.	3. 4. 53	1152,4	198,4	954	82	3943,3	0,34	1,94	457,3	0,27	1,10	3486,0	0,35	2,16

von 11/22—14/22 bzw. 16/22. Dieser Anstieg fiel mit dem starken Wachstum zusammen. Die gleiche Erscheinung, die noch einer Aufklärung bedarf, ist, wennschon in schwächerem Maße, auch an *Cannabis* von MOTHES (1952) gefunden worden.

Der absolute Stickstoffgehalt hatte sein Maximum zu einem Zeitpunkt erreicht, der im Äußeren der Pflanze in keiner Weise gekennzeichnet war (Abb. 4 bei 17/22). Dieser Punkt eilte dem Maximum des Frischgewichtes (Abb. 3, 18/22) und dem Maximum des Trockengewichtes (Abbildung 3, 21/22) mehr oder weniger

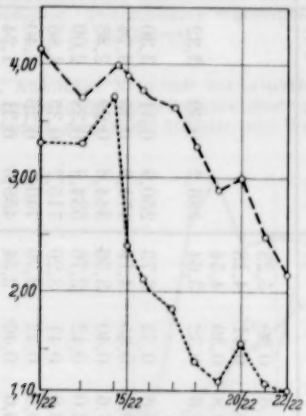

Abb. 6.

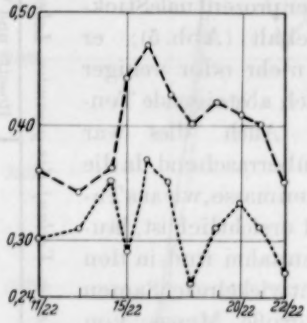

Abb. 7.

Abb. 6. Prozentualer N-Gehalt vom Blütensproß (gestrichelt) und von der Rosette mit Wurzel (punktiert), bezogen auf das Trockengewicht bei *Arabidopsis*

Abb. 7. Wie Abb. 6, nur in Abhängigkeit vom Frischgewicht.

weit voraus. Auch diese Erscheinung findet in der genannten Arbeit von MOTHES ihre Bestätigung.

Der prozentuale Stickstoffgehalt, aufgegliedert nach Blütensproß und Rosette mit Wurzel, zeigte sehr schön das gleichsinnige Absinken nach Erreichen des Maximums bei 14/22 bzw. bei 16/22 in Abb. 6 und 7.

4. Versuchsanstellung bei Oenothera suaveolens.

Die Pflanzen wurden in Töpfen von 12 cm Durchmesser im Gewächshaus gezogen. Sie waren im Februar pikiert worden und am 1. Juni konnten die ersten 8 Pflanzen (4 von jeder Variante) geerntet werden. Die Wurzeln wurden trocken von der anhaftenden Erde befreit, die ganzen Pflanzen gewogen, bei 110° abgetötet und dann bei 60° etwa 48 Std getrocknet. Nach einer weiteren Wägung wurde sie einzeln in konzentrierter Schwefelsäure verascht und der Gesamtstickstoff mit der beschriebenen Makrokjeldahl-Apparatur bestimmt.

Die Ernte erfolgte in monatlichen Abständen. Am 21. 11. 53 waren alle Pflanzen abgestorben. Die Kultur dauerte also 10 Monate und der Nenner des Altersquotienten ist 10/1 = 10.

Ergebnis. Der Stickstoffschwund am Ende der Vegetationsperiode war bei den beiden Varianten von *Oenothera suaveolens* nicht so ausgeprägt wie bei *Arabidopsis*. Dies dürfte zwei Gründe haben: Erstens wurden die Pflanzen, die an sich zweijährig sind, in 1 Jahr bis zur Frucht gebracht, was natürlich den normalen Haushalt beeinträchtigen wird, und zweitens ist die letzte Analyse nicht bei oder kurz vor dem natürlichen Alterstod durchgeführt worden. Die Pflanzen standen in einem Gewächshaus und wären, unabgehärtet wie sie waren, sehr rasch zugrunde gegangen, wenn man sie im Spätherbst plötzlich ins Freie gebracht hätte.

Trotzdem ist aus Abb. 8 die abnehmende Tendenz des Stickstoffgehaltes gut ersichtlich. Die Tabelle 2 zeigt die zu der Kurve gehörigen Einzelwerte sowie die anderen Daten.

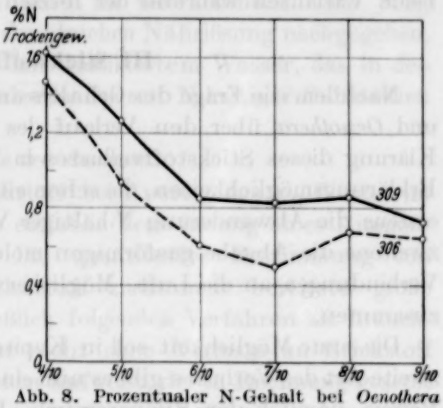

Abb. 8. Prozentualer N-Gehalt bei *Oenothera* im Verlauf von 6 Monaten, bezogen auf das Trockengewicht.

Tabelle 2. *Gesamt-N bei den beiden Varianten von Oenothera suaveolens in monatlichen Abständen.*

Alters-quotient	Nr.	Datum	Frisch g	Trok-ken g	H_2O g	H_2O %	N mg	Trok-ken %-N	Variante
4/10	1	1. 6.	2,54	0,45	2,10	84	6,66	1,48	
5/10	2	1. 7.	16,2	3,0	13,1	81	28,3	0,94	
6/10	3	1. 8.	27,3	5,3	21,4	78	35,6	0,60	k-Variante
7/10	4	1. 9.	18.7	5,3	13,4	83	26,2	0,49	(306)
8/10	5	1. 10.	14,7	4,5	10,4	71	30,0	0,68	
9/10	6	1. 11.	17,1	5,6	11,5	67	36,8	0,65	
4/10	1	1. 6.	1,60	0,25	1,35	84	3,60	1,64	
5/10	2	1. 7.	12,8	2,7	10,6	83	34,4	1,27	Xanthodermis-
6/10	3	1. 8.	26,8	5,3	21,5	80	45,7	0,84	Variante (309)
7/10	4	1. 9.	18,1	4,5	13,2	73	38,1	0,85	
8/10	5	1. 10.	12,2	3,7	8,5	70	32,7	0,88	
9/10	6	1. 11.	11,5	3,5	8,0	70	25,0	0,71	

5. *Diskussion.*

Auf Grund der hier angeführten Ergebnisse und der eingangs erwähnten Literatur darf der Verlust von Stickstoff gegen Ende der Vegetationsperiode in einer ganzen Reihe von Fällen als gesichert gelten. Er ist nun keineswegs so klein, daß er mit irgendwelchen Fehlern gedeckt werden könnte, wie Pollenverlust oder Ausfallen einiger reifer Samen,

was auch stets durch Absammeln der Früchte weitgehend vermieden wurde; auch die abgestorbenen Blätter der Rosette sowie die nicht quantitativ zu erntenden Wurzeln reichen nicht aus, dieses Defizit zu decken, beträgt doch der Gesamtverlust bei *Arabidopsis* von 17/22 bis zum Ende 1675 γ Stickstoff; dies sind fast 30% des Maximalwertes mit 5618 γ. Bei *Oenothera* erreichte der Verlust im Durchschnitt für beide Varianten während der letzten 4/10 24%.

III. Stickstoffbilanzen.

Nachdem die Frage des Gehaltes an Gesamtstickstoff bei *Arabidopsis* und *Oenothera* über den Verlauf des Lebens geprüft war, wurde die Klärung dieses Stickstoffverlustes in Angriff genommen. Es gab zwei Erklärungsmöglichkeiten, die schon eingangs angedeutet worden waren: erstens die Abwanderung N-haltiger Verbindungen in den Boden, und zweitens die Abgabe gasförmigen molekularen Stickstoffs oder anderer Verbindungen an die Luft. Möglicherweise treten auch beide Faktoren zusammen.

Die erste Möglichkeit soll in Kapitel IV behandelt werden. Für die zweite Art des Verlustes gibt es nun einen sicheren, wenn auch indirekten Beweis, nämlich den Bilanzversuch. Dieser ist aber aus verschiedenen Gründen experimentell sehr schwierig und daher auch immer mehr oder weniger problematisch. Es fehlt in der Literatur nicht an derartigen Versuchen, aber immer wieder wird auf die Mängel hingewiesen, die solchen Unterfangen anhaften. Besonders die von SCHANDERL (1947) berichteten Bilanzen, die fast alle positiv ausfielen, sind einer heftigen Kritik ausgesetzt, und sie weisen auch zweifellos eine Reihe methodischer Schwächen auf, soweit man das aus den recht knappen Angaben über die Art der Versuchsanstellung beurteilen kann. Besondere Beachtung findet der von RIPPEL-BALDES (1950) durchgeführte Versuch mit Kartoffeln, obwohl diese Pflanze, wie der Verfasser selbst schreibt, in diesem Falle nicht besonders gut geeignet ist. Das Ergebnis, das zur hier gestellten Frage keinen Beitrag liefern kann, da die Ernte vor Eintritt des normalen Alterstodes durchgeführt wurde, ist ein glattes Aufgehen der Bilanz; d. h. die gebotene Stickstoffmenge war gleich der nach Abschluß des Versuches gefundenen.

Es wurde nun der Stickstoffhaushalt bei *Arabidopsis* und bei einer Reihe von *Pilzen* überprüft und dabei alle möglichen Fehlerquellen, so gut es ging, vermieden.

1. Versuchsanstellung bei Arabidopsis.

Als Objekt diente wieder *Arabidopsis Thaliana*. Es wurden 15 Parallelversuche und 5 Kontrollen angesetzt. Als Gefäße für die Pflanzen dienten Präparategläser mit 6,5 cm Durchmesser und 9 cm Höhe, die

mit einer 1 cm tiefen Schicht stickstofffreien Quarzsandes gefüllt waren. Dieser Sand wurde mit 10 ml v. d. Crone-Nährlösung getränkt und in jedes Glas kamen 10 Samen zur Keimung. Der Versuch begann am 3. 2. 53 und endete am 28. 4. 53, als fast alle Pflanzen vergilbt waren und schon Samen, die im Glase ausgefallen waren, zu keimen begannen. Die Gefäße waren mit einer lose aufliegenden Glasplatte geschlossen. Aufgestellt waren sie auf einem Bord im Gewächshaus. Am 8. 3., 20. 3. und 4. 4. wurde je Glas 5 ml der gleichen Nährlösung nachgegeben. Das Gießen geschah nach Bedarf mit destilliertem Wasser, das in den gebotenen Mengen keine nachweisbaren Spuren N-haltiger Substanzen enthielt.

2. Methode der Analyse.

Damit keine Verluste an Stickstoff bei Anstieg des p_H-Wertes im Substrat einträten, wurde auf die einfache Verwendung eines Ammonsalzes als N-Quelle verzichtet. Die quantitative Bestimmung von Nitrat-, Ammon- und Aminostickstoff zusammen bereitete große Schwierigkeiten. Es wurde schließlich folgendes Verfahren als brauchbarstes herausgefunden, das zwar nicht ohne Verluste an Stickstoff arbeitet, aber einen konstanten Fehler aufweist, der in Rechnung gesetzt werden kann.

Die Pflanzen wurden 2 Tage vor der Analyse nicht mehr gegossen, was ihr rasches Absterben zur Folge hatte. Soweit sie nicht schon tot waren, fielen sie keiner bakteriellen Zersetzung anheim. Der gesamte Inhalt der Gefäße wurde dann einzeln in je einen Aufschließkolben von 500 ml gespült und mit Dewarda-scher Legierung im Alkalischen über Nacht auf dem Sandbad bei etwa 80° belassen. Während dieser Zeit waren die Kolben an einen absteigenden Kühler dicht angeschlossen, der in eine Vorlage mit n/50 Salzsäure eintauchte. Das Mitreißen von Laugennebel durch den entwickelten Wasserstoff wurde durch einen zwischengeschalteten Bausch stickstofffreier Glaswolle, die mit schwacher Schwefelsäure befeuchtet war, und durch eine Rücklaufkugel verhindert. (Die Vorrichtung war in verschieden variierten Kontrollversuchen erprobt worden.) Am nächsten Morgen wurde dann die Glaswolle in den Kolben gestoßen, das abgeschlossene System auf Siedetemperatur (Sandbad mit Drei-Stufen-Schaltung) gebracht und so lange destilliert, bis etwa die Hälfte der im Kolben befindlichen Flüssigkeit (etwa 200 ml) übergegangen war. Hierauf erfolgte die Titration mit n/50 Natronlauge und dem bereits erwähnten Kontrastindicator.

Der im Kolben verbliebene Rest wurde mit 25 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und auf Stufe 1 (etwa 80°) unter Zusatz von Selenreaktionsgemisch und etwas Perhydrol p. a. zwei Tage belassen, dann wurde unter reichlicher Zugabe von Perhydrol kurz aufgekocht, bis die Lösung klar geworden war. Die Destillation direkt aus dem Kolben war nicht möglich, da der darin befindliche Sand zu starke Siedeverzüge verursachte. Daher kam das Diffusionsverfahren zur Anwendung (vgl. S. 321).

Als Diffusionsgefäße dienten dickwandige Glasdosen mit plan-geschliffenem Rand (Durchmesser 9 cm, Höhe 5 cm), in denen auf Glasfüßchen ein Schälchen mit der Titerflüssigkeit stand. Wie Testproben mit Ammonsulfat ergaben, war die optimale Diffusionszeit bei Zimmertemperatur 24 Std und die Diffusionsrate infolge des relativ großen toten Raumes 95,5%. Das Aufkitten des Deckels geschah

genau wie bei den „units“ (vgl. S. 322). Auch hier wurde n/50 Salzsäure vorgelegt und wie oben zurücktitriert.

Die Testversuche mit Nitrat und Harnstoff bzw. Ammonsulfat hatten bei Mengen, die denen des Versuches entsprachen, und bei Zugabe des oben erwähnten Sandes ergeben, daß bei dieser Art des Analysenganges ein konstanter N-Verlust von 12% eintrat. Dies ist so zu erklären, daß bei der Reduktion des Nitrates zum Ammoniak als Zwischenglied Nitrit entsteht, das mit dem schon oder noch vorhandenen Ammoniak auch im alkalischen Medium nach VAN SLYKE reagiert; dabei entsteht molekularer Stickstoff, der nicht mehr erfaßt werden kann.

3. Ergebnis.

Die Tabelle 3 gibt zunächst eine Übersicht über den Zustand der Pflanzen in den einzelnen Gläsern, über die Einwaage an Stickstoff, der sich aus dem Kaliumnitrat der Nährlösung, dem Molybdännitrat der A-Z-Lösung und dem Stickstoffgehalt der Samen zusammensetzt; 10 Samen enthielten 25 γ N. Die dritte Spalte gibt die gefundenen Werte nach der Reduktion und nach der Diffusion. Die Menge des bei der Reduktion erfaßten Stickstoffs zeigt deutlich, daß bei diesem Vorgang bereits ein großer Teil des organisch festgelegten N im Alkalischen bei Wärme ausgetrieben wird. Die nächste Spalte gibt die Summe des Gesamtstickstoffes an, und die sechste schließlich die Differenz aus Einwaage und Gefundenem, also den Verlust. Zuletzt wird noch der prozentuale N-Verlust angeführt. Der Gesamtverlust ist also im Mittel 26%.

Tabelle 3. *N-Bilanzen bei Arabidopsis.*

Zustand	Einwaage (γ N)	Gefunden (γ N)			Differenz (Verlust) (γ N)	Prozent der Einwaage	Bemerkung
		Reduktion	Diffusion	Summe			
Abgestorben . .	3463	—	—	—	—	—	Glas gesprungen
Absterbend . .	3463	1560	840	2400	1063	30	
Abgestorben . .	3463	—	—	—	—	—	zerbrochen
Abgestorben . .	3463	1712	816	2528	935	27	
Abgestorben . .	3463	1632	996	2628	838	24,2	
Abgestorben . .	3463	1871	712	2583	880	25,4	
Abgestorben . .	3463	1780	719	2499	964	27,8	
Absterbend . .	3463	1812	947	2759	804	23,2	
Absterbend . .	3463	1639	792	2431	1032	29,8	
Abgestorben . .	3463	1750	1061	2811	752	22,7	
Absterbend . .	3463	1838	754	2592	871	25,1	
Absterbend . .	3463	1704	938	2642	821	23,7	
Absterbend . .	3463	1593	944	2537	926	26,8	
Abgestorben . .	3463	1822	834	2656	807	23,3	
Absterbend . .	3463	1738	809	2547	916	26,2	
$\overline{M}$ (n = 13) . .	3463			2559	904	26	

Die Tabelle 4 ergibt eine Übersicht über die 5 Kontrollproben ohne Pflanzen. Bei ihnen wurde ein Verlust von 12% gefunden, was genau mit dem in den Vorversuchen ermittelten konstanten Fehler übereinstimmt.

Tabelle 4. *Ergebnisse der N-Analysen bei den Blindproben zu den N-Bilanzen bei Arabidopsis.*

Nr.	Einwaage (γN)	Gefunden (γN)			Differenz (Verlust) (γN)	Prozent der Einwaage
		Reduktion	Diffusion	Summe		
16	1385	1105	111	1216	169	12,2
17	1385	1110	110	1220	165	11,9
18	1385	1090	121	1211	174	12,6
19	1385	1103	120	1223	162	11,7
20	1385	1099	120	1219	166	12,0
$\bar{M}$ (n = 5)	1385			1218	167	12

Der Verlust berechnet sich also folgendermaßen:

Einwaage: 3463 γN = 100%
Gefunden: 2559 γN = 74%

Differenz: 904 γN = 26%
Konstanter N-Verlust = 12%

Tatsächlicher N-Verlust = 14% = 485 γ N.

4. Bilanzen bei Pilzen.

Bei einer Reihe von *Pilzen* konnte auf diese Weise auch ein Verlust von Stickstoff an die Luft festgestellt werden.

Eine Nährlösung aus Malzextrakt (Cenovis) und Pepton nach Zycha (1935) wurde steril in kleine Reagenzgläser oder in 50-ml-Erlenmeyerkolben abgefüllt. Die Röhrchen enthielten 0,5 oder 1 ml, die Kolben 10 ml Lösung. Sie wurden dann von Reinkulturen her beimpft, und nach einer gewissen Zeit wurde der gesamte Inhalt gleich in den Kulturgefäßen auf dem Sandbad naß verascht. Die Destillation erfolgte in der Parnas-Wagner-Apparatur. Zum Vergleich wurden immer etwa 10 Gefäße mit der gleichen Substratmenge als Blindproben verarbeitet, die gleichlange bei 27° in derselben Klimakammer gestanden waren. Der Einzelversuch wurde immer in 10—15 Parallelproben durchgeführt. Während der ganzen Kulturdauer standen die Gefäße, die immer mit Zellstoffpfropfen verschlossen waren, unter Glasglocken, um ein zu starkes Verdunsten zu verhindern.

Bemerkung. Bei diesen Versuchen konnte häufig eine starke Schwankung in der Wachstums- und Keimungsgeschwindigkeit beobachtet werden. Bei schlechtem, regnerischen Wetter wuchsen die Pilze im allgemeinen besser als bei Hochdrucklage, wie auch von anderer Seite festgestellt wurde. (Vgl. z. B. Rippel-Baldes 1952, S. 142 mit Hinweis auf Bortels 1949.)

Jeder der 16 untersuchten Stämme wurde mindestens 10mal geprüft; 8 zeigten einen deutlichen N-Verlust. Die Kulturzeiten waren recht verschieden: von 6 Tagen als Minimum bis zu 34 Tagen als Maximum. Bei Wiederholung des Versuchs am gleichen Stamm ergaben sich stets etwas andere Werte, aber die Größenordnung des Ergebnisses war immer

die gleiche. Es kam nicht vor, daß ein Pilz einmal N-Verlust zeigte, das andere Mal dagegen nicht. Aus diesen Verschiedenheiten konnte eine physiologische Schwankungsbreite von 6% ermittelt werden; ein Gewinn von 4—7%, wie er bei *Helminthosporium sp.*, *Verticillium sp.* und *Rhizopus nigricans* gefunden wurde, kann also nicht als reell gelten. Die Tabelle 5 gibt eine Übersicht über das Verhalten der untersuchten Pilze.

5. Diskussion.

Obwohl das Ergebnis der Bilanzen bei *Arabidopsis* den Stickstoffverlust an die Luft bestätigt, kann man sich doch nicht dem Gefühl verschließen, daß damit noch kein eindeutiger Beweis erbracht sei; die Methode ist nicht gerade ideal und alles andere als elegant. Daher wurde auf ihre Durchführung die höchstmögliche Sorgfalt verwandt. Eine Überbrückung dieser Schwierigkeiten ergäbe sich leicht durch die Anwendung hochprozentiger ^{15}N-haltiger Gemische von Kaliumnitrat, wie sie von EASTMAN-KODAK in Rochester angeboten werden. Leider waren solche mit den zur Verfügung stehenden Mitteln nicht zugänglich.

Dagegen stand ein Ammonchlorid zur Verfügung, das zu 4% ^{15}N enthielt[1]. Die Menge war aber so gering, daß Versuche an höheren Pflanzen damit nicht durchgeführt werden konnten. Bei Pilzen zeigte sich damit kein Effekt. Es wurden die Arten untersucht, die den stärksten Verlust bei Ernährung mit Pepton gehabt hatten (*Absidia* 274, *Chaetomium sp.* und *Alternaria sp.*; vgl. Tabelle 5). Zur Kontrolle wurden dann auch noch *Actinomucor repens* und *Mucor hiemalis* + und — geprüft, aber auch diese hatten bei Darbietung von Ammonchlorid statt Pepton ganz glatt aufgehende Bilanzen. Damit würde also eine Beobachtung von ALLISON und Mitarbeiter (1948b) bestätigt, daß der Stickstoffverlust von der Art des gebotenen Substrates abhängig sei.

Wie in dem Kapitel über die Methodik der N-Bestimmung bei den Bilanzen an *Arabidopsis* schon erwähnt, ist das angewandte Verfahren nicht sehr schön. Ein anderes ist aber nicht bekannt. Dennoch kann man das Ergebnis, wenn auch mit einem gewissen Vorbehalt, als einen Beleg für den Verlust von gasförmigen, stickstoffhaltigen Substanzen im Verlaufe des Lebens werten. Freilich muß auch hier wieder die Einschränkung gemacht werden, daß von höheren Pflanzen nur eine Art untersucht wurde. Es sei aber in diesem Zusammenhang an die Vorstellung VIRTANENS erinnert, die er im Herbst 1953 bei einem Vortrag in München entwickelte. Er forderte als — allerdings bis jetzt noch

[1] Von Herrn Doz. Dr. BECKER am Physikalischen Institut der Universität Marburg in freundlicher Weise kostenlos überlassen.

Tabelle 5. *Zusammenstellung der Pilzstämme, bei welchen N-Bilanzen durchgeführt wurden, mit dem Ergebnis in Prozenten der Einwaage an Stickstoff.*

	Kulturdauer Tage	Zahl der Versuche	Bilanzergebnis
1. Fungi imperfecti:			
Fusarium sp.	9	15	15,8% Verlust
Helminthosporium sp.	15	10	4 % Gewinn
Alternaria sp.	34	20	22 % Verlust
Botrytis cf. cinerea	9	10	8,7% Verlust
Verticillium sp.	19	10	7,3% Gewinn
2. Mucorineen:			
Rhizopus nigricans	15	12	4,4% Gewinn
Actinomucor repens	9	20	22 % Verlust
Mucor racemosus	12	10	12 % Verlust
Phycomyces Blakesleeanus	12	10	kein Verlust
Absidia 274*	11	30	26 % Verlust
3. Ascomyceten:			
Chaetomium sp.	9	24	23 % Verlust
Aspergillus niger	11	14	9 % Verlust
Aspergillus sp. (grün)	9	16	11,5% Verlust
Penicillium sp.	13	15	3,8% Verlust
Penicillium cf. notatum	13	10	kein Verlust
Torula Hefe (rosa)	6	10	kein Verlust

* Von Herrn MUSKAT am hiesigen Institut aus einer tunesischen Erdprobe isolierte Art.

nicht faßbares — Zwischenglied beim Abbau des Eiweißes Nitrit und formulierte den Vorgang folgendermaßen:

$$NO_2' + R{-}\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}}{-}COOH \rightarrow N_2 + (H_2O + R{-}\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}{-}COOH)$$

Das entspricht wieder weitgehend der Reaktion nach VAN SLYKE. Energetisch betrachtet, handelt es sich dabei um einen ausgesprochen exothermen Vorgang, was seinen Ablauf in der vergilbenden Pflanze gut verständlich machen würde, also in einem Zustand, in dem die enzymatischen Systeme schon weitgehend gestört zu sein scheinen.

Die Verluste bei den Pilzen gehen sicher auf andere Reaktionen zurück, da sie schon nach so kurzen Kulturzeiten wie 9 Tagen feststellbar waren. Sie scheinen mit dem normalen N-Stoffwechsel in Zusammenhang zu stehen und nicht erst in der letzten Phase des Lebens aufzutreten. Jedenfalls zeigen auch sie die prinzipielle Möglichkeit der Abgabe gasförmiger N-haltiger Verbindungen an. Überprüft wurde an *Aspergillus niger* und an *Alternaria sp.* die Möglichkeit einer Ammoniakabscheidung. Die Pilze wurden hierzu in die großen Diffusionsgefäße (vgl. S. 329) geimpft, die mit Malz-Pepton-Agar ausgegossen waren. Die vorgelegte n/100 Schwefelsäure zeigte gegenüber ihrer ursprünglichen

Acidität nach 12 Tagen keine Veränderung. Dies beweist, daß kein Ammoniak abgeschieden wurde; andere Arten sind nicht auf diese Weise geprüft worden. Also ist auch anzunehmen, daß es sich nicht um einen von Amidase gesteuerten Prozeß handelt, der die fragliche Substanz in Freiheit setzt (vgl. MYRBÄCK 1953, S. 82). Auch die bei Pilzen häufig auftretenden Geruchsstoffe scheinen, nach Angaben von BLINC (1940), dafür nicht verantwortlich zu sein, denn es handelt sich in den untersuchten Fällen um rein aromatische Ester.

Eine gewisse Bestätigung des von VIRTANEN geforderten Nitrites scheint in dem parasitischen Pilz *Blakeslea trispora* gegeben zu sein. Nach Angaben von LILLY und BARNETT (1951, S. 101) ist er nämlich in der Lage, Nitrit zu verwerten. Er kommt aber nur als Schwächeparasit in tropischen Gebieten vor. ZYCHA schreibt, daß er auf vergilbenden Tabakblättern und auf welkendem Unkraut lebt. Man könnte also von der physiologischen Eigenart dieses Pilzes und seinem Vorkommen indirekt auf das Vorhandensein von Nitrit in diesen absterbenden Organen schließen.

In diesem Zusammenhang sei auch noch auf eine Arbeit von POWELL und STRANGE (1953) hingewiesen. Die Verfasser fanden bei *Bact. megathericum* und *Bact. subtilis* während der Keimung der Sporen einen N-Verlust, der durch die Abgabe von Aminosäuren, Peptiden und Hexosamin, welches zu einem nicht dialysierbaren Peptid gehörte sowie Dipicolinsäure verursacht wird.

IV. Stickstoffverluste durch die Wurzel.

Die eingangs schon erwähnte Möglichkeit eines Verlustes von N-haltigen Substanzen wurde an Mais (Sorte „Badischer Landmais") und Spargel experimentell überprüft. Hierzu mußte eine Kulturmöglichkeit gefunden werden, die es erlaubte, die Pflanzen ohne Schädigung zu ziehen und zugleich den Wurzelbereich steril zu halten. Zu diesem Zwecke wurden zuerst die ganzen Pflanzen in Flaschen kultiviert. Die hohe Luftfeuchtigkeit verhinderte aber ein normales Wachstum. *Iberis amara* kam auf Sand, der mit v. d. Crone-Nährlösung getränkt war, in 3-Liter-Flaschen aus weißem Industrieglas bis zur Blüte; die Pflanzen zeigten aber einen extrem gestreckten Wuchs und bildeten kaum Blätter aus, so daß hier sicherlich keine brauchbaren Ergebnisse zu erwarten gewesen wären. Als recht erfolgreich erwies sich hingegen die „halbsterile" Kultur. Die Methode wurde in Anlehnung an SCHROPP (1951) entwickelt.

Die Samen von Mais und Spargel wurden mit konzentriertem Bromwasser 45 min lang bei Zimmertemperatur sterilisiert und dann in Petri-Schalen auf Agar ausgelegt. Mais war nach 5—7 Tagen so weit

gekeimt, daß er in Wasserkultur genommen werden konnte, Spargel brauchte hierzu etwa 3 Wochen.

500-ml-Erlenmeyer-Kolben wurden oben durch eine Gummimanschette (Fahrradschlauch!) mit einem kleinen Bakelitbecher (Gefäße von Reico-Fleischextrakt) verbunden (Abb. 9). Die Becher hatten am Boden eine Bohrung von 6 mm Durchmesser. Die Kolben wurden mit v. d. Crone-Nährlösung gefüllt und nach Aufsetzen der Becher 40 min im Autoklaven sterilisiert. Von dort kamen sie in einen Impfkasten. Nach dem Abkühlen konnten die Keimlinge mit der Wurzel durch das Loch in die Nährlösung gesteckt und der Becher gut bis zur Hälfte mit sterilem Quarzsand gefüllt werden. So blieben sie einige Tage stehen, bis die Pflanzen einige Zentimeter über den Sand herausgewachsen waren. Nun wurde der die Pflanze stützende und haltende Sand sorgfältig mit Katadynbolus abgedeckt und die Kolben, mit Papphülsen verdunkelt, im Gewächshaus aufgestellt.

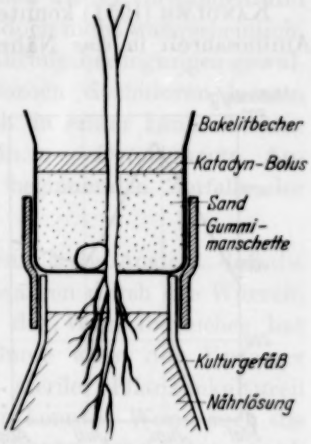

Abb. 9 Schematische Darstellung des Verschlusses eines Kulturgefäßes für die halbsterile Wasserkultur.

Die Kulturdauer richtete sich nach dem Verbrauch der Nährlösung. Beim Mais belief sie sich auf etwa $2^1/_2$ Monate, während die Spargelpflanzen 5 Monate auf der Lösung bleiben konnten. War der Boden der Kolben nur mehr einige Zentimeter hoch mit Nährlösung bedeckt, so wurde die Pflanze herausgenommen und die Lösung bei etwa 40° im Vakuum auf 2 ml eingeengt. — Insgesamt wurden so die Wurzelausscheidungen von 7 Maispflanzen und von 6 Spargelpflanzen erhalten. Angelegt waren jeweils 10 Gefäße; der Rest war infiziert worden.

Die eingeengten Lösungen wurden nur auf Aminosäuren hin untersucht, da diese wohl den Hauptanteil der N-haltigen Abscheidungen ausmachen dürften. Die Trennung der einzelnen Säuren geschah nach der papierchromatographischen Methode (Cramer 1948).

Als Papier wurde Schleicher & Schüll 2043b verwendet. Die Lösungsmittel, die immer nebeneinander gebraucht wurden, waren Isopropylalkohol-Eisessig-Wasser 70:20:10, α-Picolin-Wasser-Ammoniak 70:28:2 mit Ammoniak in der Gasphase und Phenol wassergesättigt mit KCN in der Gasphase. Nach dem Trocknen der Bogen wurde eine Lösung von 20 mg Ninhydrin in 100 ml Isopropanol, 10 ml Wasser und 10 Tropfen Eisessig beidseitig aufgesprüht und 5 min bei 110° im Trockenschrank „entwickelt". Mit der Nährlösung wurden stets auch Testsubstanzen aufgetragen, die zum Vergleich dienten. Es wurde nur eindimensional gearbeitet.

Ergebnis. Nach der oben besprochenen Behandlung der Kulturlösung ergab sich folgendes: Asparagin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glykokoll, Serin, Valin, γ-Aminobuttersäure und Prolin fanden sich bei Asparagus. Bei Zea konnten Asparagin, Glutamin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Alanin, Serin, Valin und Leucin nachgewiesen werden.

Eine quantitative Auswertung wurde nicht vorgenommen, auch nicht approximativ, da die Intensität der Flecken infolge der verschiedenen Kulturdauer und der Unmöglichkeit einer genauen Bestimmung des Endvolumens nach dem Einengen nicht vergleichbar waren.

Diskussion.

KANDLER (1951) konnte zeigen, daß in vitro kultivierte Maiswurzeln Aminosäuren in das Nährsubstrat abscheiden. Er fand die gleichen Komponenten, wie sie auch von uns in dem vorher geschilderten Versuch sichtbar gemacht werden konnten. Auch VIRTANEN (1936) stellte bereits solche Verluste durch die Wurzeln intakter Pflanzen fest. GRÄF (1930), KATZNELSON (1948) und RIPPEL-BALDES (1952) weisen auf die Bedeutung der Ausscheidungen von Aminosäuren, Biotin und Aneurin durch die Wurzel für die Bodenbakterien hin. GRÄF fand bei Untersuchungen über die quantitative Verteilung der Rhizosphärenorganismen einen starken Anstieg der Zahl — in erster Linie Bakterien — während der Wachstumsperiode der höheren Pflanzen. In der Reifezeit, also mit Absinken des Gesamtstickstoffgehaltes (vgl. Tab. 1), ging auch die Bakterienzahl wieder etwas zurück, um in der Zeit nach der Ernte erneut leicht anzusteigen. Die Abb. 10 ist eine vereinfachte Wiedergabe der Kurve, die GRÄF über die Keimzahlen an der Wurzeloberfläche während der gesamten Vegetationsperiode brachte. Als Versuchspflanzen verwandte sie Pferdebohnen, Klee, Weizen, Sommergerste, Rübsen, Roggen und Wintergerste. Vergleicht man damit Abb. 4 und 5, so zeigt sich, daß die Maxima der Kurven etwa zeitlich zusammenfallen. Die Gründe für dieses Verhalten sind nun wahrscheinlich in der verschiedenen Intensität der Aminosäureverluste durch die Wurzel während der einzelnen Lebensabschnitte zu suchen. Freilich werden nicht nur Aminosäuren und andere stickstoffhaltigen Substanzen beteiligt sein, sondern auch Zucker und andere Assimilate. Jedenfalls wird es sich im wesentlichen um solche Körper handeln, die mehr oder weniger spezifisch

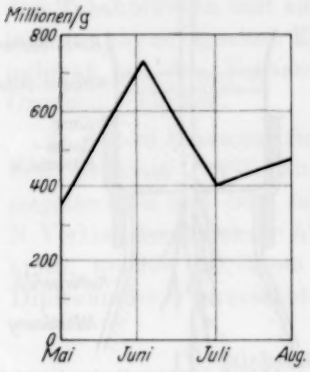

Abb. 10. Gesamtkeimzahlen in Millionen je Gramm Erde der Rhizosphäre als Funktion der Zeit. Nach GRÄF (1930), vereinfacht.

als Nährstoffe für die Bakterien der Rhizosphäre in Frage kommen. Mit der hohen Innenkonzentration dieser Stoffe ist erklärlicherweise auch ein relativ großer Verlust auf dem Wege der Diffusion verbunden. Je mehr Nährstoffe aber zu Verfügung stehen, desto höher wird die Keimzahl dort sein, wo diese Stoffe in den Boden gelangen, also an der Oberfläche der Wurzeln. Es dürfte daher die Auslegung der erhöhten Keimzahl in dem oben wiedergegebenen Zeitraum, die Wojtkiewicz (1915) (s. Gräf 1930) gab, nicht richtig sein. Er sagt, daß das Maximum auf das Fehlen der bakterienfressenden Protozoen, die durch die tiefen Temperaturen des Winters vernichtet oder geschädigt sind, zurückzuführen sei. Im Herbst seien diese Organismen wieder vorhanden und könnten das Minimum verursachen. Es ist jedoch nicht wahrscheinlich, daß sich Bakterien bei ihrer unter guten Ernährungsbedingungen gewaltigen Vermehrungsrate so stark von Protozoen dezimieren lassen. Ausschlaggebend für ihre Zahl scheint doch in erster Linie die zur Verfügung stehende Nährstoffmenge zu sein. — Der erneute Anstieg nach der Ernte wird eine Folge des beginnenden Zerfalls der Wurzeln sein.

Rippel-Baldes (1952, S. 315) vertritt ebenfalls die Ansicht, daß die „Sekretion" von Aneurin, Biotin und Aminosäuren durch die Wurzeln einen direkten Einfluß auf die Mikroflora des Wurzelbereiches hat (Literatur hierüber ebenda). In einer Fußnote weist der Verfasser jedoch darauf hin, daß Stolp im Substrat steriler Pflanzenkulturen weder Aneurin noch Aminosäuren nachweisen konnte. Wenn auch die Kulturen von isolierten Wurzeln, wie sie Kandler durchführte, noch keine Gewähr für den Verlust von Aminosäuren an intakten Pflanzen gibt, so sind doch die oben beschriebenen Versuche zumindest bei Mais und Spargel und die Angaben von Virtanen (1936) bei Leguminosen ein Beweis dafür.

V. Abschlußdiskussion.

Für eine ganze Reihe von Pflanzen ist ein Verlust an gasförmigem Stickstoff schon gesichert, wie verschiedene angelsächsische Arbeiten beweisen, so von Davidson (1923), Pearsall und Billimoria (1937). Die Autoren bedienten sich jedoch auch des Verfahrens der Stickstoffbilanzen. Welche Fehler die Versuchsmethodik mit sich bringt, ist nicht genau zu entscheiden, aber jedenfalls liegt der Fehler größenordnungsmäßig unter dem Gesamtschwund an Stickstoff. Da die Blindversuche hier nicht mit „biologischem N" ausgeführt werden können, ist auf die angewandte Methode kein sicherer Verlaß, und es wird der Zukunft überlassen bleiben, eine Arbeitsweise zu finden, die genauer ist und sich für Reihenuntersuchungen besser eignet.

Nun können die Bilanzen, wie schon angedeutet, nur als indirekter Beweis einer Abgabe von Stickstoff an die Luft angesehen werden. Da aus den auf S. 332 angegebenen Gründen der direkte Beweis nicht erbracht werden konnte, muß die endgültige Klärung dieser Frage noch offen gelassen werden. Es sei aber auf Arbeiten von ALLISON und Mitarbeitern (1948a und b) hingewiesen, die an verschiedenen Objekten unter Verwendung von ^{15}N als Indicator diese Möglichkeit prinzipiell klären konnten.

Im speziellen Falle der Cruciferen mag auch an Verluste durch die Senföle gedacht werden; für *Arabidopsis* kommt das aber nicht in Betracht, da sich hier keine solchen Isothiocyansäureester finden (vgl. KLEIN 1932, S. 1093). Auf die Riechstoffe bei Pilzen wurde schon auf S. 334 eingegangen.

Bei der Prüfung des Stickstoffverlustes aus der Wurzel waren keine solchen Fehler zu befürchten. Die Möglichkeit, daß nicht die von der Wurzel selber abgegebenen Aminosäuren identifiziert würden, sondern nur die von den sich loslösenden Zellen der Wurzelhaube stammenden, wurde durch Filtrieren der Nährlösungen vor dem Einengen vermieden.

Mit Absicht wurde der Ausdruck „Ausscheidungen" der Wurzel nicht gebraucht, denn es handelt sich dabei sicher nicht um eine aktive Abscheidung, sondern eher um einen Verlust durch Auslaugung, wie auch VIRTANEN (1936, S. 880) und KANDLER (1951, S. 445) betonen. Wird außerhalb der Wurzel die Konzentration der Stoffe, die herausdiffundieren können, immer wieder herabgesetzt, wie es im Boden durch die Rhizosphärenorganismen geschieht, oder wie es VIRTANEN durch Zugabe von Kaolin zur Nährlösung erreichte, dann nehmen die Verluste beträchtliche Werte an. Ist das nicht der Fall, so bildet sich ein Gleichgewicht aus, und die Gesamtmengen sind recht gering, wie in den mitgeteilten Versuchen bei Mais und Spargel.

Nach dem hier Berichteten kann man als gesichert ansehen, daß, zumindest bei den untersuchten Pflanzen, ein Verlust an Stickstoff gegen Ende der Vegetationsperiode eintritt, und daß sowohl die Wurzel einer N-Zehrung unterliegt, als auch gasförmige Stoffe, die Stickstoff enthalten, durch Exhalation vor allem an den Blättern verlorengehen.

Die Lehrmeinung, wonach die Pflanze mit ihrem Stickstoff sehr haushälterisch umgeht, soll durch diese Mitteilung keineswegs angetastet werden, handelt es sich doch bei diesen Verlusten sicherlich stets um passive Exkretion, die von der Pflanze nur nicht verhindert werden kann. Die stoffwechselphysiologische und wirtschaftliche Bedeutung dieser Erscheinung darf jedoch nicht übersehen werden.

Zusammenfassung.

1. An *Arabidopsis tahliana* und an zwei Varietäten von *Oenothera suaveolens* wurde im letzten Teile der Vegetationsperiode ein Schwund

an Gesamtstickstoff festgestellt. Er betrug bei *Arabidopsis* 30% des Maximalwertes, der am 85. Tag der 110 Tage dauernden Kultur erreicht worden war, und 24% bei *Oenothera*, die ihren Maximalwert im 6. Monat von 10 Monaten insgesamt hatte.

2. Die auf das Trockengewicht bezogenen Relativwerte an Gesamtstickstoff nahmen bei *Arabidopsis* von 5,32—1,94% und bei *Oenothera* von 1,56—0,68% ab.

3. Bilanzversuche an *Arabidopsis* ergaben nach Kultur bis zum natürlichen Absterben einen Verlust von 14% Stickstoff.

4. Bilanzversuche an niederen Pilzen zeigten nach unterschiedlichen Kulturzeiten bei 9 von 16 Arten einen merklichen N-Verlust (bis zu 23%).

5. An halbsterilen Wasserkulturen mit Mais und mit Spargel konnte eine Auslaugung von Aminosäuren aus den Wurzeln beobachtet werden, die mit Hilfe der Papierchromatographie identifiziert wurde.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Renner, möchte ich für die Förderung meiner Arbeit meinen aufrichtigsten Dank sagen.

Literatur.

Allison, F. E., K. S. Love, L. A. Pinck and V. L. Gaddy: Gaseous losses of nitrogen from green plants. I. Studies with Chlorella and Lemna. Plant Physiol. **23**, 496—504 (1948a). — Allison, F. E., Luann de tar Sterling: Gaseous losses of nitrogen from green plants. II. Studies with excised leaves in nutrient media. Plant Physiol. **23**, 603—608 (1948b). — Blinc, M.: Riechstoffbildung bei Schimmelpilzen. Arch. Mikrobiol. **11**, 391—405 (1940). — Burd, I. S.: Rate of absorption of soil constituents at successive stage of plant growth. J. Agricult. Res. **18**, 51 (1919). — Conway, E. I.: Microdiffusion analysis an volumetric error. London 1947. — Cramer, F.: Papierchromatographie. Weinheim 1952. — Davidson: Is gaseous N a product of seedling metabolism? Bot. Gaz. **76**, 95—101 (1923). — Gräf, G.: Über den Einfluß des Pflanzenwachstums auf die Bakterien im Wurzelbereich. Zbl. Bakter. II **82**, 44—96 (1930). — Itallie, Th. B.: Het verloop van de opname van stikstof, fosforzuur en kali door verschillende gewassen te velde. Versl. landbouwkund. Onderz. A **43** (2) (1937). — Kandler, O.: Papierchromatographischer Nachweis der Aminosäureausscheidung in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **6**b, 437—475 (1951). — Katznelson, Lochhead and Timonin: Soil microorganisms and the rhizosphere. Bot. Review **14**, 543—572 (1948). — Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 3, Teil 2, II. Hälfte. Wien 1932. — Laibach, F.: Zur Ätiologie der Blütenbildung. Naturwiss. **31**, 246 (1943). — Lilly, V. G., and H. L. Barnett: Physiology of the Fungi. New York 1951. — Loehwing, W. F.: Physiological aspects of sex in Angiosperms. Bot. Review **4**, 581 (1938). — Lux, H.: Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse, 2. Aufl. München 1949. — Mothes, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. 3. Beitrag. Planta (Berl.) **12**, 686—731 (1931). — Stickstoffbilanz und Stickstoffverlust. Planta (Berl,) **28**, 599—610 (1938). — Mothes, K., u. L. Engelbrecht: Über geschlechtsverschiedenen Stoffwechsel zweihäusiger Pflanzen. Flora (Jena) **139**, 1—27 (1952). — Myrbäck, K.: Enzymatische Katalyse. Berlin 1953. — Pearsall, W. H., and Billimoria: Losses of N from green plants. Biochemic. J. **31**, 95—101, 1743—1750 (1937). — Penston, N. L.: Return

of mineral elements to the soil by plants. Nature (London) **134**, 268—269 (1934). — Powell, I. F., and R. E. Strange: Biochemical changes occuring during the germination of bacterial spores. Biochem. J. **54**, 205—209 (1953). — Rippel-Baldes, A.: Über die angebliche Stickstoffbindung durch Nichtleguminosen. Arch. Mikrobiol. **14**, 334—339 (1950). — Grundriß der Mikrobiologie, 2. Aufl. Berlin 1952. — Schanderl, H.: Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage. Stuttgart 1947. — Schropp, W.: Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. Radebeul 1951. — Stubbe, W.: Genetische und zytologische Untersuchungen an verschiedenen Sippen von *Oenothera suaveolens*. Z. Vererbungslehre **83**, 198 (1952). — Virtanen, A. I.: Nature of the excretion of nitrogen compounds from legume noduls. Nature (Lond.) **2**, 880—881 (1936). — Assimilation of molecular and combined nitrogen by microorganisms. Symp. Metabol. Microb. Inst. Superiore di Sanità. Roma 1953. — Wilfarth, H., H. Römer u. G. Wimmer: Über die Nährstoffaufnahme der Pflanzen in verschiedenen Zeiten ihres Wachstums. Landwirtsch. Versuchsstat. **63**, 1 (1905). — Zycha, H.: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Pilze II Mucorineae. Leipzig 1935.

Dr. Hanns Frank, München 38, Botan. Institut der Universität, Menzinger Str. 67.

Planta, Bd. 44, S. 341—369 (1954).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut in Göttingen.

QUANTITATIVE MIKROSPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG DER SPEICHERUNGS- UND PERMEABILITÄTSVERHÄLTNISSE AKRIDINORANGEGEFÄRBTER ZELLEN.

Von

PETER BARTELS.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juni 1954.)

A. Einleitung.

Aufnahme und Speicherung organischer Farbstoffe sind bereits von verschiedenen Seiten untersucht worden. Auf spektralphotometrischen Messungen beruhende Angaben über die Konzentration der gespeicherten Farbstoffe liegen jedoch kaum vor. Für das von STRUGGER (1940) und BUKATSCH und HAITINGER (1940) in die Untersuchungstechnik eingeführte Akridinorange hat KÖLBEL (1947) eine quantitative Untersuchung der Speicherung durch lebende und tote Hefezellen durchgeführt. Die von den Zellen aufgenommene Farbstoffmenge wurde durch eine Photometrie der *Restlösung* ermittelt. Gegen ein solches Vorgehen sind jedoch von BOGEN (1953), vor allem gegen die Messung nach kurzen Färbezeiten, Einwände erhoben worden.

Es erschien daher wünschenswert, derartige Messungen auf *mikrospektroskopischem* Wege *an einzelnen Zellen* direkt durchzuführen. Die hohe Nachweisempfindlichkeit absorptionsspektroskopischer Methoden gestattet es, den zu untersuchenden Farbstoff in nur geringer Konzentration und während nur kurzer Färbezeiten einwirken lassen zu müssen, um die von einer einzelnen Zelle aufgenommene Farbstoffmenge bereits messen zu können. Es eröffnet sich damit eine Möglichkeit, die Permeationskonstante bzw. den Stoffaufnahmewert der untersuchten Substanz direkt zu bestimmen. Voraussetzung dazu ist, daß die an der Membran und im Plasma gespeicherte Substanzmenge gesondert bestimmt werden kann.

Es war das Ziel dieser Arbeit, das Speicherungsverhalten akridinorangegefärbter Zellen unter Berücksichtigung der zu erwartenden Streuungsverhältnisse quantitativ in Abhängigkeit von der Färbezeit, dem p_H und der Konzentration der gebotenen Farbstofflösungen zu untersuchen. Die so gewonnenen Ergebnisse sollten zu einer eingehenden und durch Meßwerte zu belegenden Analyse des Speicherungsvorganges herangezogen werden, ferner sollte die Möglichkeit einer direkten

Bestimmung der Permeationskonstanten bzw. des Stoffaufnahmewertes untersucht werden.

B. Farbstoffuntersuchung.

Voraussetzung für eine Konzentrationsbestimmung in den lebenden Zellen war eine vorhergehende Untersuchung des Absorptionsverhaltens des Akridinorange in Abhängigkeit von der Konzentration und der Wasserstoffionenkonzentration. Wie erst nach Abschluß der entsprechenden eigenen Messungen bekannt wurde, ist gleichzeitig eine sehr eingehende Untersuchung des Absorptions- und Emissionsverhaltens des Akridinorange in Abhängigkeit von Konzentration, p_H-Wert und Temperatur von ZANKER (1952) durchgeführt worden. Bezüglich einer ausführlichen Darstellung und theoretischen Deutung der charakteristischen konzentrationsabhängigen Veränderungen an Absorptions- und Emissionsspektrum kann daher auf die Arbeiten von ZANKER verwiesen werden.

Methodik.

1. Reinigung des Farbstoffs und Herstellung der Pufferlösungen. Als Ausgangsprodukt diente Akridinorange 2 G der Firma Merck, Darmstadt. Der Farbstoff kommt als Zinkchlorid-Doppelsalz in den Handel. Das käufliche Produkt enthält eine gewisse Menge „Stellsalz", im vorliegenden Fall handelte es sich um NaCl. Der Farbstoff wurde daher, wie auch bei ZANKER beschrieben, gereinigt. Nach Lösen in Alkohol und Abfiltrieren wurde mit Aqua dest. auf etwa das 6fache verdünnt, die Farbbase mit verdünnter NaOH gefällt und rasch durch ein Hartfilter abgenutscht. Der Niederschlag wurde bei Zimmertemperatur getrocknet, in $CHCl_3$ gelöst und chromatographisch über eine Al_2O_3-Säule gereinigt. Nach Eluieren mit $CHCl_3$ wurde durch Vakuumdestillation eingeengt und das in der auskristallisierten Molekülverbindung enthaltene $CHCl_3$ durch Trocknen im Vakuum quantitativ entfernt. Die reine Farbbase wurde dann in Alkohol gelöst, mit einer entsprechenden Menge Salzsäure versetzt und das Farbstoffchlorid ausgeäthert. Nach sorgfältigem Waschen mit Äther erhält man das spektralreine Farbstoffchlorid in Form feiner tiefroter Nadeln.

Als Pufferlösungen fanden teils die von STRUGGER (1949) angegebenen Kalium-Natriumphosphatpuffergemische, teils der McILVAINEsche Citronensäure-Phosphatpuffer in 0,015 molarer Lösung Verwendung. Die mittlere absolute Salzkonzentration betrug 1,8 g/Liter. Sämtliche Lösungen wurden mit quarzdestillierter Aqua bidest. angesetzt.

2. Absorptionsmeßanordnung. Als Lichtquelle diente eine stromstabilisierte 100 Watt-Wolframbandlampe. Aufgenommen wurde mit dem großen Glasspektrographen von Zeiss, Öffnungsverhältnis 1:5, welcher mit dem Dreiprismensatz nach FÖRSTERLING ausgerüstet ist. Als Plattenmaterial dienten die Hauff-Pancola-Platte 19/10 DIN und die Perutz-Peromnia-Platte 19/10 DIN. Die Platten wurden mit dem automatischen Registrierphotometer von Zeiss ausphotometriert.

Die Cuvetten mit der zu untersuchenden Lösung befanden sich in einem auf 20° C gehaltenen Umlaufwasserbad.

Die Untersuchung der konzentrierteren Lösungen wurde in einer lichtelektrischen Anordnung vorgenommen. Die spektrale Zerlegung erfolgte im Spiegel-Doppelmonochromator von LEISS. Die wirksame spektrale Breite des Meßlichtes betrug 24 Å bei 5000 Å und 9,6 Å bei 4000 Å. Als Strahlungsempfänger diente ein Sekundärelektronenvervielfacher der Firma Dr. Maurer, zur Messung des Photostroms ein Lichtmarkengalvanometer mit der Stromempfindlichkeit 10^{-8} A Skt. Vorher war die Linearität des Sekundärelektronenvervielfachers bis zu Photoströmen von 500 Mikroampére überprüft worden.

Das hohe Absorptionsvermögen des Farbstoffs machte für die Untersuchung der konzentrierteren Lösungen die Konstruktion von Meßcuvetten besonders geringer lichter Weiten erforderlich. Diese bestanden aus 2 Kristallglasscheiben, zwischen welche U-förmig geschnittene Stücke Aluminiumfolie in Stärken von 20—600 μ eingelegt wurden. Die Platten konnten unter Kontrolle eines interferometrischen Verfahrens plangerichtet werden. Die lichte Weite der Cuvetten wurde

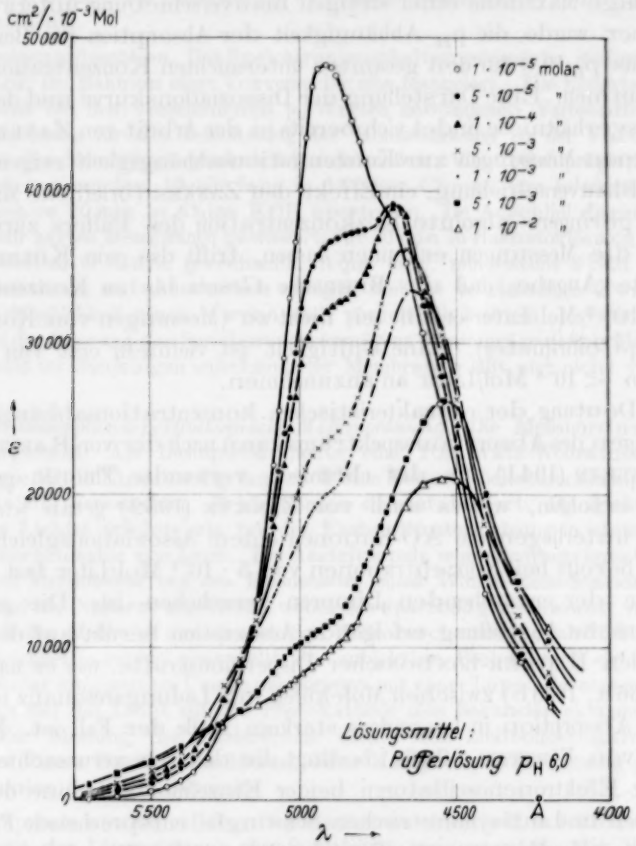

Abb. 1. Absorptionskurven des Akridinorange für verschiedene Konzentrationen.

nach jeder Absorptionsmessung nach einem mechanischen Dickendifferenz-Meßverfahren mit Komparatorablesung gemessen.

3. Ergebnisse der Farbstoffuntersuchung. Es wurden die Absorptionskurven für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-5}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter aufgenommen. Wie Abb. 1 zeigt, tritt das bei 4910 Å gelegene, in $1 \cdot 10^{-5}$ molarer Lösung stark ausgeprägte Absorptionsmaximum mit zunehmender Konzentration immer weniger hervor, während gleichzeitig ein bei kürzeren Wellenlängen gelegenes und in $1 \cdot 10^{-5}$ molarer Lösung eben erst als leichte Schulter in

der Absorptionskurve angedeutetes Maximum sich immer stärker bemerkbar macht. Diese Verlagerung der Absorption geht so weit, daß in $1 \cdot 10^{-3}$ molarer Lösung von dem langwelligen Maximum praktisch nichts mehr zu bemerken ist. Bei dieser Konzentration liegt das Maximum der kurzwelligen Bande bei 4630 Å. Mit steigender Konzentration ist das kurzwellige Maximum einer stetigen Blauverschiebung unterworfen.

Ferner wurde die p_H-Abhängigkeit der Absorption im Bereich von p_H 2,0 bis p_H 10,0 für den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich aufgenommen. Eine Darstellung der Dissoziationskurve und der Gleichgewichtsverhältnisse findet sich bereits in der Arbeit von ZANKER (1952). Die eigenen Messungen zur Konzentrationsabhängigkeit zeigen eine geringere Blauverschiebung, ein Effekt, den ZANKER (briefliche Mitteilung) auf die geringere absolute Salzkonzentration des Puffers zurückführt.

Wie die Messungen erkennen lassen, trifft die von KÖLBEL (1947) gemachte Angabe, daß das BEERsche Gesetz bis zu Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter erfüllt sei, nicht zu (Messungen von KÖLBEL mit Duboscq-Colorimeter). Eine Gültigkeit ist vielmehr erst von Konzentrationen $< 10^{-8}$ Mol/Liter an anzunehmen.

Die Deutung der charakteristischen konzentrationsabhängigen Veränderungen des Absorptionsspektrums kann nach der von RABINOWITSCH und EPSTEIN (1941) für das chemisch verwandte Thionin gegebenen Theorie erfolgen, wie es auch von ZANKER (1952) getan worden ist. Danach unterliegen die AO-Kationen einem Assoziationsgleichgewicht, welches bereits bei Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter fast ganz auf die Seite der entstehenden Dimeren verschoben ist. Die gegen die COULOMBsche Abstoßung erfolgende Assoziation beruht auf dem Wirksamwerden HEITLER-LONDONscher Dispersionskräfte, wie es nach KORTÜM (1936a, 1936b) zwischen Molekülen mit Ladungsresonanz und langwelliger Absorption in besonders starkem Maße der Fall ist. Nach der Theorie von FÖRSTER (1946a) bedingt die dadurch verursachte Koppelung der Elektronenoscillatoren beider Einzelmoleküle eine dem symmetrischen und antisymmetrischen Schwingfall entsprechende Frequenzaufspaltung der Frequenz des Einzeloscillators. Da die antisymmetrische Schwingung jedoch kein resultierendes Dipolmoment aufweist, tritt diese Schwingung in Absorption nicht auf, so daß sich trotz der Existenz zweier Schwingungsformen nur ein einziges, bei kürzeren Wellenlängen gelegenes und dem symmetrischen Schwingfall entsprechendes Absorptionsgebiet des Dimeren ergibt.

C. Untersuchung der Speicherungs- und Permeabilitätsverhältnisse.

I. Methodik.

1. Versuchsmaterial und Präparation. Als Material wurden Epidermiszellen der Zwiebelschuppenoberseite von *Allium cepa* verwendet, welche wie von STRUGGER (1949) angegeben präpariert wurden. Die Zwiebeln stellten sortenreines über-

wintertes Material der Sorte „Zittauer Gelbe" dar. Um physiologisch vergleichbare Epidermisstückchen zu erhalten, wurden stets nur Häutchen aus einer etwa 8×8 mm großen Zone aus der Mitte der dritten Schuppe von außen zur Messung herangezogen. Zur Einfärbung wurden die Häutchen jedoch im Gegensatz zum Hergange bei STRUGGER untergetaucht, um definierte Diffusionsverhältnisse zu schaffen. Nach dem Färben und Auswaschen in Pufferlösung gleichen p_H-Wertes wurden die Häutchen in Pufferlösung auf einem Objektträger in die Meßanordnung eingebracht.

2. Membranpräparation. Das Speicherungsverhalten gereinigter, isolierter Membranen wurde im Rahmen einer Vorversuchsreihe festgelegt. Die Kenntnis der an der Membran bei den verschiedenen p_H-Werten gebundenen Farbstoffmenge ist die Voraussetzung für die Berechnung der Konzentration in der Vacuole. Die Präparation der Membranen geschah folgendermaßen: Wie üblich präparierte Epidermisstückchen wurden 10 min lang in 15%iger Chromsäure belassen, gespült und für weitere 10 min in 5%ige KOH übertragen. Im Anschluß daran wurden die jetzt sehr zarten Membranen gewässert, für 30 min in Harnstofflösung eingelegt und zum Schluß in häufig gewechselter Aqua dest. mindestens 8 Std ausgewaschen. Einfärbung und Auswaschen erfolgte wie bei vollständigen Zwiebelhäutchen. Die Möglichkeit eines — wenn auch vermutlich kleinen — systematischen Fehlers bei der Messung des Speicherungsvermögens chrompräparierter Membranen im Gegensatz zu demjenigen unbehandelter Membranen läßt sich nicht völlig ausschließen.

3. Mikroabsorptionsspektroskopische Meßanordnung. Die Meßanordnung ist in Abb. 2 dargestellt. Als Lichtquelle diente eine 100 Watt-Wolframbandlampe (Osram Type Wi 16 E), zeitweilig fand auch eine Xenon-Höchstdrucklampe (Osram Type XBO 301) Verwendung. Beide wurden stromstabilisiert. Die spektrale Zerlegung des Lichtes erfolgte wie bei der Farbstoffuntersuchung in dem Spiegel-Doppelmonochromator von LEISS. Der Austrittsspalt wurde mittels eines Objektivs von 16,5 cm Brennweite und des Kondensors eines Winkel-Zeiss-Standardmikroskopes scharf im Präparat abgebildet, wobei das Spaltbild gerade soweit verkleinert wurde, daß das Meßlicht nur eine einzige Zelle durchsetzte. Spaltbild und Zelle wurden gleichzeitig scharf eingestellt, die subjektive Beobachtung erfolgte über ein dem Okular aufgesetztes Umschwenkprisma mit einer Lupe. Bei ausgeschwenktem Prisma fiel das Licht auf die Photokathode des Sekundärelektronenvervielfachers. Zur Messung der Photoströme diente das Lichtmarkengalvanometer HLM 4 der Firma Hartmann & Braun. Eine Kompensationsschaltung gestattete die Subtraktion des Dunkelstroms.

Die Präparate wurden auf dem Objektträger so orientiert, daß die Zellenlängsrichtung mit der Längsrichtung des Spaltbildes zusammenfiel. Mit Hilfe eines Kreuztisches konnten abwechselnd gefärbte und ungefärbte Präparate in den Strahlengang gebracht werden. Die Objektträger wurden vorher auf gleichmäßige Lichtdurchlässigkeit geprüft. Die Messung der Schichtdicken der Zellen wurde mit der Mikrometerschraube eines Mikroskopes so vorgenommen daß erst auf die Sphärosomen des unteren, dann auf die des oberen Plasmawandbelages eingestellt wurde.

II. Methodik der Auswertung.

1. Berechnung der Konzentration. Die Gleichung für die Intensitätsabnahme beim Durchlaufen eines absorbierenden Systems lautet: $I = I_0 \cdot 10^{-\varkappa d}$. Darin bedeuten I_0 die eingestrahlte, I die durchgelassene Intensität und $\varkappa$ den Absorptionskoeffizienten des Systems, dessen Schichtdicke d ist. Es ist ferner $\varkappa = \varepsilon \cdot c$ worin c

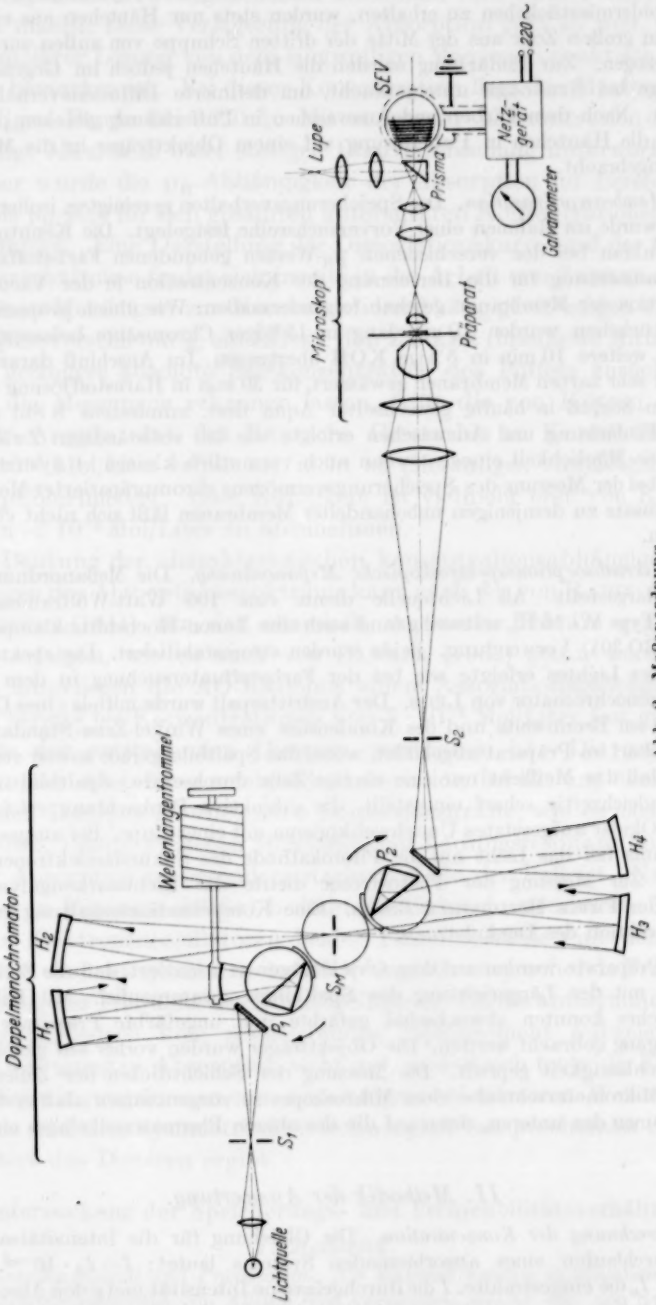

Abb. 2. Meßanordnung.

die Konzentration der absorbierenden Substanz, ε deren molarer dekadischer Extinktionskoeffizient ist. $\varkappa$ berechnet sich zu:

$$\frac{1}{d} \log \frac{I_0}{I} = \varkappa.$$

Die Lichtschwächung durch ein System, wie es eine vitalgefärbte Zelle darstellt, setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen. Setzt man voraus, daß jeweils obere und untere Membran, sowie oberer und unterer Plasmawandbelag gleiche Schichtdicke besitzen und keine Unterschiede im Speicherungsvermögen für Farbstoffe aufweisen, so gilt:

$$\log \frac{I_0}{I} = 2\,\varkappa_m d_m + 2\,\varkappa_{pl} d_{pl} + \varkappa_v d_v$$

worin die mit den Indices m, pl, v gekennzeichneten Werte die Absorptionskoeffizienten bzw. Schichtdicken für Membran, Plasma und Vacuole darstellen.

Alle Messungen wurden als Relativmessung gegen ungefärbte Zellen bzw. Membranen ausgeführt. Die Absorption des im Plasmawandbelag gespeicherten Farbstoffs kann gegenüber hohen und mittleren Vacuolenkonzentrationen der sehr geringen Schichtdicke wegen vernachlässigt werden. Selbst bei Annahme der Farbstoffsättigungskonzentration von $9{,}1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter im lebenden Plasma würde sich erst eine Absorption von rund 5% ergeben. Die tatsächlich vorliegende Konzentration liegt aber mit großer Wahrscheinlichkeit bei sehr viel geringeren Werten.

Wird die Absorption des an der Membran gespeicherten Farbstoffs gesondert gemessen, so ergibt sich für den Absorptionskoeffizienten in der Vacuole:

$$\log \frac{I_0}{I}_{\text{gesamt}} = \varkappa d_{\text{gesamt}} \qquad \frac{\varkappa d_{\text{gesamt}} - 2\,\varkappa_m d_m}{d_v} = \varkappa_v.$$

Im p_H-Bereich oberhalb p_H 7,0 nimmt die Absorption in der Membran sehr stark ab und beträgt von p_H 8,0 an für Innenkonzentrationen bis herab zu etwa $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter nur noch rund 2%. Für geringere Vacuolenkonzentrationen dagegen ist eine Vernachlässigung nicht ohne weiteres zulässig. Im zulässigen Konzentrationsbereich und für Messungen oberhalb p_H 8,0 jedoch läßt sich der Absorptionskoeffizient für die Vacuole nach $\frac{1}{d_v} \log \frac{I_0}{I} = \varkappa_v$ errechnen. Letzterer gestattet nach der Beziehung $c = \frac{\varkappa}{\varepsilon}$ die Berechnung der Konzentration in der Vacuole. Da aber das Beersche Gesetz für das Akridinorange nicht erfüllt, und damit ε selbst eine Funktion der erst zu errechnenden Konzentration ist, wurde die Konzentration aus einer Eichkurve entnommen. Ein solches Vorgehen war im vorliegenden Falle wegen der Eindeutigkeit der Funktion $\varkappa(c)$ zulässig.

2. Einführung und Fragestellung der statistischen Behandlung. An jedem Präparat wurden je 200 Messungen für I_0 und I angestellt. Während die Meßwerte für I_0 nur eine Abweichung von $\pm 2\%$ vom Mittelwert aufweisen, so daß I_0 praktisch als konstant angesehen werden kann, sind die Meßwerte für I mit einer Streuung von ± 30—40% vom Mittelwert behaftet. Diese Schwankung wird durch 2 voneinander unabhängige Ursachen hervorgerufen, nämlich unterschiedliche Schichtdicke und Farbstoffkonzentration in den einzelnen Zellen. Die Verteilung der Schichtdicken wurde für jedes Präparat nach abgeschlossener Absorptionsmessung an Hand von 400 Einzelbestimmungen aufgenommen, die Werte schwanken von 30—70 μ.

Schon weil die Schichtdicke d mit einer erheblichen Streuung behaftet ist, kann I keinen konstanten Wert ergeben, so daß der zu errechnende Wert des $\log I_0/I$ einer gewissen Streuung unterworfen ist. Es muß nun Aufgabe einer statistischen

Behandlung des Problems sein festzustellen, ob die im $\log I_0/I$ zu beobachtende Streuung allein auf die Schwankung der Schichtdicken zurückzuführen ist, oder ob ein gewisser Anteil der Streuung des $\log I_0/I$ seine Ursache in einer unterschiedlichen Farbstoffkonzentration in den einzelnen Zellen hat.

Die statistische Auswertung hat die Berechnung der Wahrscheinlichkeitsdichte für die Innenkonzentration zum Ziel. Sie wurde nach einem graphischen Verfahren, das von der Art der Verteilung der streuenden Größen unabhängig ist, und nach einem analytischen Verfahren vorgenommen, bei dem die Verteilungen der streuenden Größen durch GAUSSsche Verteilungsfunktionen angenähert werden. Bei beiden Verfahren wird die Gesamtheit der Werte des streuenden Kollektivs in $2\sqrt[3]{n}$ Intervalle eingeteilt. Diese empirische Regel ist von BERTRAM (1953) erweitert und ausführlich begründet worden.

3. Beschreibung des graphischen Auswerteverfahrens. Bei der graphischen Auswertung wird folgendermaßen vorgegangen: es ist: $I = I_0 \cdot 10^{-\varkappa d}$. I_0 ist eine Konstante, die Verteilungen von I und d sind bekannt. Gesucht wird die Verteilung von $\varkappa$, das als $\varkappa = \frac{1}{d} \cdot \log \frac{I_0}{I}$ eine Funktion von I und d ist.

Es werden hierzu die auf 1 normierten Wahrscheinlichkeiten für I und d errechnet. Man zeichnet dann ein Koordinatensystem, dessen Ordinate den Maßstab für I und dessen Abszisse den Maßstab für d erhält. Auf Ordinate und Abszisse werden die Intervalle abgetragen, die der Berechnung der Wahrscheinlichkeiten für I und d zugrunde gelegt sind. Über diesen werden die ihnen entsprechenden Quotienten $\frac{\text{Absolute Besetzungszahl}}{\text{Anzahl der Messungen}} = \frac{A_z}{n}$, die ja als Wahrscheinlichkeiten definiert sind, für I nach links und für d nach unten aufgetragen.

Die Wahrscheinlichkeit für I sei mit u_ν, für d mit v_μ bezeichnet. Dann ist

$$\sum_\nu u_\nu = 1 \text{ und } \sum_\mu v_\mu = 1.$$

Die Fläche zwischen der I- und der d-Achse wird dann in Felder aufgeteilt, die den einzelnen Intervallen entsprechen. In jedes dieser Wahrscheinlichkeitsfelder wird das ihm zukommende Produkt $u_\nu v_\mu$ eingetragen.

Es sei $u_\nu v_\mu = w_{\nu\mu}$, dann gilt: $\sum w_{\nu\mu} = 1$. $w_{\nu\mu}$ gibt die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens bestimmter I- und d-Werte an. Dann wird in die Gleichung $I = I_0 \cdot 10^{-\varkappa d}$ ein bestimmtes $\varkappa$ eingesetzt und die bei konstantem I_0 und bestimmten Schichtdicken sich ergebenden I-Werte errechnet. Man erhält so die dem eingesetzten $\varkappa$ entsprechende Kurve der mit zunehmender Schichtdicke wachsenden Lichtschwächung. Dieses Vorgehen wird für weitere $\varkappa$-Werte wiederholt. Die von 2 derartigen Kurven eingeschlossene Fläche entspricht einem $\varkappa$-Intervall, das mit ϱ bezeichnet werden möge. Es ist nun $w_\varrho = \sum w_{\nu\mu}$, d.h. die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmter $\varkappa$-Wert auftritt, ist durch die Summe über alle $w_{\nu\mu}$ gegeben, die in dieses $\varkappa$-Intervall fallen. Zur genauen Berechnung von w_ϱ müssen die einzelnen Wahrscheinlichkeitsfelder ausplanimetriert und die Prozentsätze der Wahrscheinlichkeiten $w_{\nu\mu}$, die in die verschiedenen $\varkappa$-Intervalle fallen, errechnet werden. Die Summierung über alle diese Wahrscheinlichkeitsanteile ergibt w_ϱ. Diese werden dann über einer neu zu zeichnenden $\varkappa$-Abszisse nach Division durch die $\varkappa$-Intervallbreite als Wahrscheinlichkeitsdichten für $\varkappa$ aufgetragen.

Es ist jetzt noch der Übergang von der $\varkappa$-Verteilung zur Konzentrationsverteilung zu machen. Es ist $w(\varkappa)\, d\varkappa = Q(c)\, dc$, $\varkappa = \varepsilon c$

$$Q(c) = w(\varepsilon c) \cdot \frac{d(\varepsilon c)}{dc}$$

und folglich:

$$Q(c) = \varepsilon \cdot w(\varepsilon c),$$

d. h. der Ordinatenmaßstab muß mit ε, der Abszissenmaßstab mit $1/\varepsilon$ multipliziert werden.

Um bei der praktischen Rechnung nicht mit den Dezimalbrüchen der auf 1 normierten Wahrscheinlichkeiten rechnen zu müssen, ist es zweckmäßig, an Stelle der Wahrscheinlichkeiten u_ν und v_μ die Wahrscheinlichkeiten U_ν und V_μ, welche auf n_1 und n_2 normiert sind, zu verwenden. n_1 und n_2 seien die Anzahl Messungen, die für die beiden streuenden Größen angestellt sind. Diese Wahrscheinlichkeiten U_ν und V_μ stellen direkt die absoluten Besetzungszahlen Δz dar. Man erhält dann $w_{\nu\mu}$ als $\frac{W_{\nu\mu}}{n_1 \cdot n_2}$.

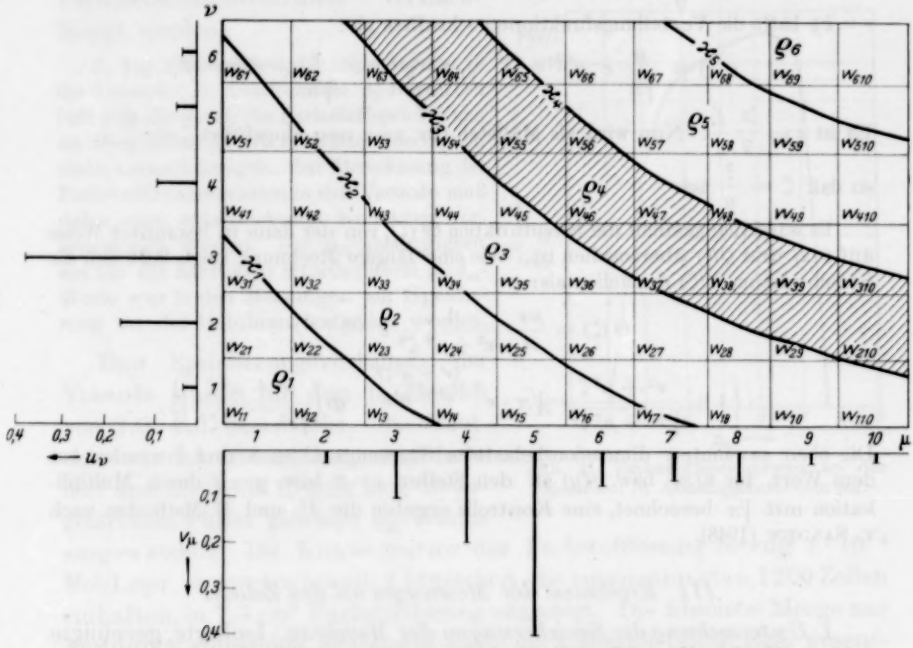

Abb. 3. Beispiel zum graphischen Auswerteverfahren. Ein $\varkappa$-Intervall ϱ schraffiert. Man erhält die Wahrscheinlichkeitsdichte für $\varkappa$, indem man über alle Wahrscheinlichkeitsanteile $w_{\nu\mu}$ im ganzen Gebiet ϱ summiert und durch die $\varkappa$-Intervallbreite dividiert.

4. Erläuterung des analytischen Verfahrens. Gesucht ist die Verteilungsfunktion $Q(c)$. c wird errechnet aus der Beziehung $\log \frac{I_0}{I} = \varkappa d$ und $c = \frac{\varkappa}{\varepsilon}$.

Es seien nun die Umbenennungen

$$\log \frac{I_0}{I} = \varkappa d = x, \quad d = y \quad \text{und} \quad \varkappa = \frac{x}{y} = z$$

vorgenommen.

Gesucht wird zunächst die Verteilungsfunktion $w(z)$.

Gegeben sind die Verteilungsfunktionen

$$u(x) = \frac{h}{\sqrt{\pi}} e^{-h^2 (x - \bar{x})^2}$$

$$v(y) = \frac{k}{\sqrt{\pi}} e^{-k^2 (y - \bar{y})^2}.$$

Darin bedeuten $u(x)$ und $v(y)$ die durch die Anzahl Messungen für die streuenden Größen dividierten Wahrscheinlichkeitsdichten, h und k die entsprechenden Streuungszahlen. Da diese letzteren dimensionsbelastet sind, ist es für die numerische Auswertung zweckmäßig, auf die Verteilungsfunktionen

$$\varphi(\xi) = \frac{h\bar{x}}{\sqrt{\pi}}\, e^{-h^2\bar{x}^2(\xi-1)^2} \quad \text{und} \quad \psi(\eta) = \frac{k\bar{y}}{\sqrt{\pi}}\, e^{-k^2\bar{y}^2(\eta-1)^2}$$

überzugehen, mit $\varphi(\xi)$ über der relativen Skala $\xi = \frac{x}{\bar{x}}$ und $\psi(\eta)$ über der relativen Skala $\eta = \frac{y}{\bar{y}}$. Einführung der dimensionslosen Streuungszahlen $\mu = h\bar{x}$ und $\nu = k\bar{y}$ läßt die Verteilungsfunktionen schreiben als:

$$\varphi(\xi) = \frac{\mu}{\sqrt{\pi}}\, e^{-\mu^2(\xi-1)^2} \quad \text{und} \quad \psi(\eta) = \frac{\nu}{\sqrt{\pi}}\, e^{-\nu^2(\eta-1)^2}.$$

Es ist $z = \frac{\bar{x}}{\bar{y}}\,\frac{\xi}{\eta}$. Nun wird als Maßstab für $z = \varkappa$ neu eingeführt $\zeta = \frac{\bar{y}}{\bar{x}}\, z$, so daß $\zeta = \frac{\xi}{\eta}$ ist.

Es wird nun gesucht die Streufunktion $\Theta(\zeta)$, von der dann in bekannter Weise auf $w(z)$ und $Q(c)$ überzugehen ist. Wie eine längere Rechnung zeigt, läßt sich die Streufunktion $\Theta(\zeta)$ darstellen als:

$$\Theta(\zeta) = \frac{\mu\nu}{\pi}\,\frac{1}{\nu^2+\mu^2\zeta^2}\, e^{-(\nu^2+\mu^2)}$$
$$\cdot\left\{1 + \frac{\nu^2+\mu^2\zeta}{\sqrt{\nu^2+\mu^2\zeta^2}}\cdot\sqrt{\pi}\cdot e^{+\frac{(\nu^2+\mu^2\zeta)^2}{\nu^2+\mu^2\zeta^2}}\cdot\Phi\left(\frac{\nu^2+\mu^2\zeta}{\sqrt{\nu^2+\mu^2\zeta^2}}\right)\right\}.$$

Die oben erwähnten dimensionsbelasteten Streuungszahlen h und k werden aus dem Wert für $u(x)$ bzw. $v(y)$ an den Stellen $x = \bar{x}$ bzw. $y = \bar{y}$ durch Multiplikation mit $\sqrt{\pi}$ berechnet, eine Kontrolle ergeben die U- und W-Methoden nach v. SANDEN (1948).

III. Ergebnisse der Messungen an den Zellen.

1. Untersuchung der Speicherung an der Membran. Isolierte, gereinigte Membranen wurden 15 min lang in gepufferter, $1 \cdot 10^{-4}$ molarer AO-Lösung eingefärbt und anschließend in ungefärbtem Puffer gleichen p_H-Wertes ausgewaschen. Der untersuchte p_H-Bereich umfaßte die Werte von p_H 2,0—8,0. Die Meßergebnisse (Abb. 4) stehen in guter Übereinstimmung mit den Befunden STRUGGERS (1940), KÖLBELS (1947) und DRAWERTS (1948). Bei p_H 2,0 besteht die von STRUGGER beschriebene Imbibitionsfärbung, die Farbstoffkonzentration in der Membran hat den Wert der Außenkonzentration. Nach DRAWERT und KÖLBEL ist der Mittelwert des engen p_H-Bereiches, in dem die Farbstoffspeicherung stark zunimmt, mit dem mittleren IEP der Membransubstanzen identisch, dieser liegt hier bei etwa p_H 2,7. Er liegt damit etwas weiter im sauren Bereich, als es von DRAWERT für die Membranen lebender Epidermiszellen angegeben wird. Von p_H 4,0 an macht sich ein Sättigungseffekt bemerkbar, das Maximum der Speicherung wird bei p_H 6,0 erreicht. Die

Gesamtkonzentration in der Membran hat hier den Wert $1{,}5 \cdot 10^{-2}$ Mol je Liter. Diese Befunde decken sich mit den Messungen KÖLBELS zur Farbstoffspeicherung an Reincellulose, welche ein Maximum bei p_H 6,7 zeigt. Von p_H 7,0 an erfolgt ein steiler Abfall des Speicherungsvermögens, auch dieses Ergebnis entspricht dem von STRUGGER angegebenen Wert von p_H 6,8. Von p_H 8,0 an sinkt die Konzentration des an der Membran gebundenen und imbibierten Farbstoffs auf etwa $5 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter und kann daher gegenüber mittleren und hohen Vacuolenkonzentrationen vernachlässigt werden.

2. p_H-Abhängigkeit der Speicherung in der Vacuole. In bestimmten p_H-Bereichen läßt sich die durch die Farbstoffspeicherung an der Membran verursachte Absorption nicht vernachlässigen. Zur Berechnung der Farbstoffkonzentration in der Vacuole muß daher eine entsprechende Korrektur vorgenommen werden. Die p_H-Abhängigkeit der für die Korrektur erforderlichen $\varkappa_m d_m$-Werte war in den Messungen zur Speicherung an der Membran festgelegt worden.

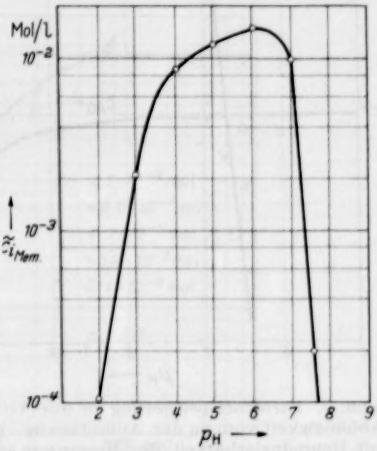

Abb. 4. Farbstoffspeicherung an der Membran in Abhängigkeit vom p_H.

Das Speicherungsverhalten der Vacuole wurde für den p_H-Bereich von 2,0—8,5 untersucht. Die Häutchen wurden 15 min lang eingefärbt und anschließend 10 min lang in ungefärbtem Puffer gleichen p_H-Wertes ausgewaschen. Die Konzentration der Farbstofflösung betrug $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter, es wurden jeweils 2 Häutchen, die zusammen etwa 1200 Zellen enthalten, in 7,5 cm³ Farbstofflösung eingelegt. Die absolute Menge zur Verfügung stehenden Farbstoffs spielt nach BOGEN (1953) eine wesentliche Rolle.

Jeder Meßpunkt in der graphischen Darstellung Abb. 5 entspricht dem Mittelwert von 50 Messungen. Die Streuung der Konzentrationswerte ist auf dem gesamten Anstieg der Kurve von p_H 6,5—7,0 mit einer Schwankung um $\pm$ 10% der durch die Speicherung bedingten Konzentrationszunahme als gering zu betrachten. Zwischen p_H 7,0 und 7,5 dagegen vergrößert sich diese Streuung auf $\pm$ 25%. Darin kommt zum Ausdruck, daß der Umschlag von der überwiegenden Membran- zur überwiegenden Vacuolenfärbung nicht für alle Zellen beim gleichen p_H-Wert erfolgt. Die eben gemachten Streuungsangaben beziehen sich auf die Streuung um die als Mittelwerte eingetragenen Meßpunkte. Abb. 5 dagegen gibt einen Überblick über die Reproduzierbarkeit der Messungen bei Verwendung verschiedener Zwiebeln. Von p_H 8,0 an liegt in allen

Zellen eine ausgeprägte Vacuolenfärbung vor, die mit einer leichten Vacuolenkontraktion verbunden ist. Das Streuungsmaß geht für diesen p_H-Wert wieder auf die in den Abb. 9 und 10 dargestellten Verhältnisse zurück.

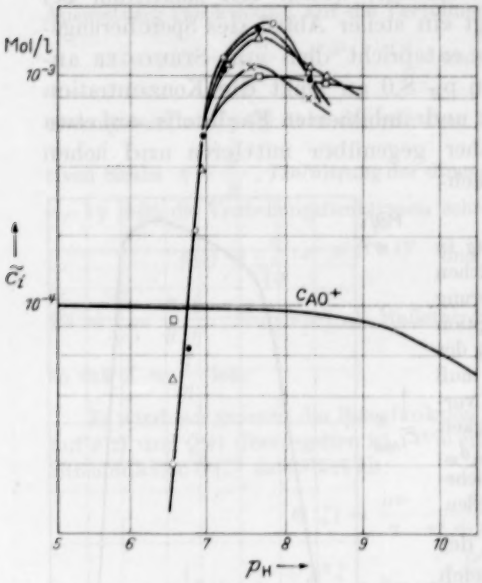

Abb. 5. Farbstoffspeicherung in der Vacuole in Abhängigkeit vom p_H der Außenlösung. Beispiel zur Reproduzierbarkeit der Messungen an 5 verschiedenen Zwiebeln.

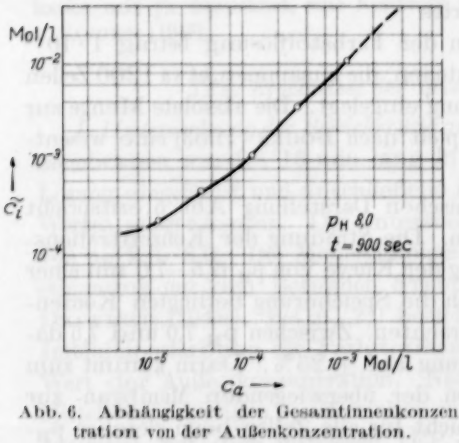

Abb. 6. Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von der Außenkonzentration.

Es erschien daher ratsam, alle Versuche zur Festlegung des Vacuolenspeicherungsverhaltens in Abhängigkeit von der Konzentration und Färbezeit bei p_H-Werten zwischen p_H 8 und 8,5 anzustellen. Dieses Vorgehen bringt den Vorteil mit sich, daß die Streuung der Innenkonzentration begrenzt ist, eine hinreichende Speicherung vorliegt und die Membranabsorption für genügend große Vacuolenkonzentrationen bereits zu vernachlässigen ist.

3. Abhängigkeit der Speicherung in der Vacuole von der Außenkonzentration. Die Einfärbung der Epidermen geschah, wie im vorigen Abschnitt beschrieben. Die Farbstofflösungen waren auf p_H 8,0 gepuffert, die Färbezeit betrug 15 min. Es zeigte sich, daß die Speicherung in starkem Maße von der Außenkonzentration abhängig ist, und zwar in dem Sinne, daß mit steigender Außenkonzentration für Außenkonzentrationen $> 10^{-4}$ Mol/Liter linear mit derselben ansteigende Innenkonzentrationen zu messen sind. Jeder Meßpunkt in der Abb. 6 entspricht dem Mittelwert von 600 Messungen. Unter $\tilde{c}_i$ soll die Gesamtinnenkonzentration des Farbstoffs in der Vacuole, d.h. sowohl frei gelöster, als auch eventuell adsorptiv gebundener Farbstoff verstanden werden. Eine ausführliche Deutung wird in der theoretischen Behandlung gegeben und begründet.

4. Abhängigkeit der Speicherung von der Färbezeit. Besonders interessante Aufschlüsse über den Mechanismus der Farbstoffaufnahme und -speicherung versprach die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Innenkonzentrationszunahme, wobei den Messungen nach sehr kurzen Färbezeiten besondere Aufmerksamkeit zugewandt wurde.

Die Lösungen waren auf p_H 8,0 gepuffert, die Farbstoffkonzentrationen der Außenlösungen betrugen $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol je Liter. Die Färbezeiten wurden von 10—900 sec variiert.

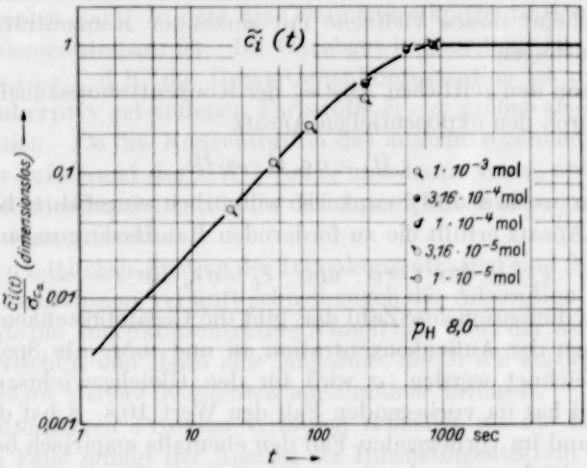

Abb. 7. Relativer zeitlicher Verlauf der Gesamtinnenkonzentrationszunahme.

Es zeigt sich, daß der zeitliche Anstieg der Gesamtinnenkonzentration linear mit der Zeit erfolgt. Erst nach 200 sec erfolgt eine Abnahme der je Zeit- und Flächeneinheit in die Vacuole gelangenden Farbstoffmenge, bis nach etwa 1000 sec ein Gleichgewichtszustand erreicht wird. Der zeitliche Anstieg wurde für die Außenkonzentration $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter von 10—900 sec vermessen, für die anderen Konzentrationen liegen Meßwerte in statistisch auszuwertender Anzahl erst von einer Färbezeit von 150 sec an vor. In Abb. 7 ist das Verhältnis der zeitabhängigen Gesamtinnenkonzentration zu der Größe σc_a dargestellt. Unter dieser soll derjenige Wert der Gesamtinnenkonzentration verstanden werden, der sich nach Einstellung des Gleichgewichtszustandes ergibt, und ein bestimmtes Vielfaches σ der Außenkonzentration ist. Man erkennt, daß der sich einstellende Grenzwert der Gesamtinnenkonzentration in charakteristischer Weise von der Außenkonzentration abhängt.

IV. Auswertung und Deutung der Versuchsergebnisse.

1. Aufstellung einer empirischen Beziehung. Die erhaltenen Versuchsergebnisse zeigen, daß die Zunahme der Gesamtinnenkonzentration in

der Vacuole während der ersten 200 sec der Zeit direkt, von 200—1000 sec jedoch nicht mehr direkt proportional ist. Nach Ablauf dieser Zeit steigt die Innenkonzentration nicht mehr weiter an. Der relative zeitliche Verlauf des Anstiegs ist von der Außenkonzentration unabhängig, nicht jedoch der sich einstellende Grenzwert der Gesamtinnenkonzentration, welcher nach Ablauf der zur Einstellung eines Gleichgewichtszustandes erforderlichen Zeit ein stets gleich großes Vielfaches der Außenkonzentration wird. Wie Abb. 8 zeigt, gilt diese Feststellung für einen weiten Bereich der Außenkonzentration. Für sehr kleine Außenkonzentrationen dagegen scheint dieses Vielfache mit sinkender Konzentration immer weiter anzusteigen.

Man kann den zeitlichen Anstieg der Konzentrationszunahme in der Vacuole durch den exponentiellen Ansatz

$$\bar{c}_i(t) = \sigma c_a (1 - e^{-\beta t}) \qquad (1)$$

beschreiben, worin σ und β zunächst willkürlich eingeführte Konstanten sind. Der Ansatz erfüllt die zu fordernden Randbedingungen:

$$\bar{c}_i = o \text{ für } t = o \quad \text{und} \quad \bar{c}_i = \sigma c_a \text{ für } t = \infty.$$

σ stellt eine dimensionslose Zahl dar, gibt die Gesamtinnenkonzentration in Vielfachen der Außenkonzentration an und möge als Speicherungsfaktor bezeichnet werden. σ wird für den Gleichgewichtszustand errechnet und hat im vorliegenden Fall den Wert 10,8. β hat die Dimension sec^{-1} und im vorliegenden Fall den ebenfalls empirisch bestimmten Wert $3{,}71 \cdot 10^{-3}\,sec^{-1}$.

2. Ableitung einer quantitativen Beziehung. Die dem gemessenen Kurvenverlauf mittels des Faktors β angepaßte empirische Gleichung (1) läßt keine Aussagen über die Natur der willkürlich eingeführten Konstanten σ und β zu. Die unabhängig von ihr vorzunehmende Ableitung einer quantitativen Beziehung soll eine Berechnung der Permeationskonstanten ermöglichen. Sie muß 3 experimentell gefundene Tatsachen berücksichtigen: die Innenkonzentration an Farbstoff liegt nach Erreichen eines Gleichgewichtszustandes weit über der Außenkonzentration. Der sich nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes einstellende Wert der Innenkonzentration ist von der Außenkonzentration abhängig. Die Innenkonzentration überschreitet den Wert der Außenkonzentration angenähert linear mit der Zeit.

Zur Erklärung dieser Tatsachen sollen 2 ausdrücklich als solche gekennzeichnete Annahmen gemacht werden, deren Berechtigung später untersucht werden soll.

a) Der Farbstoff unterliegt im Innern der Vacuole einem dem Massenwirkungsgesetz folgenden Adsorptionsgleichgewicht. Es wird daher unterschieden zwischen der Gesamtinnenkonzentration $\bar{c}_i$, der Konzen-

tration des frei gelöst vorliegenden Farbstoffs c_i und der Konzentration des adsorptiv gebundenen Farbstoffs $\tilde{c}_i - c_i$.

b) Der frei gelöst vorliegende Farbstoff steht im Diffusionsgleichgewicht mit dem Farbstoff in der Außenlösung. Das bedeutet, daß die Konzentration des frei gelösten Farbstoffs in der Vacuole den Wert der Außenkonzentration nicht überschreiten kann. Wie weiter unten erläutert wird, ist damit noch keine Aussage über den Mechanismus des Farbstoffdurchtritts durch das lebende Cytoplasma gemacht.

Aus diesen beiden Annahmen folgt, daß ein Gleichgewichtszustand erreicht werden kann, in dem die Gesamtinnenkonzentration größer als die Außenkonzentration ist. Im Gleichgewichtszustand ist $c_i = c_a$ und $\tilde{c}_i = (\tilde{c}_i - c_i) + c_a$, d. h. die Gesamtinnenkonzentration ist um den Betrag des adsorptiv gebundenen Farbstoffs $\tilde{c}_i - c_i$ größer als die Außenkonzentration. Da die Konzentration des adsorptiv gebundenen Farbstoffs aber auf Grund des MWG von c_i und damit von c_a abhängt, wird die Gesamtinnenkonzentration im Gleichgewichtszustand eine Funktion der Außenkonzentration.

Für den zeitlichen Anstieg der Innenkonzentration sind 2 Fälle denkbar. Die Eindiffusion verläuft schnell gegen die Adsorption. In diesem Falle würde die Innenkonzentration schnell den Wert der Außenkonzentration erreichen und dann eine langsame, durch die adsorptiven Prozesse bedingte weitere Konzentrationszunahme erfolgen.

Die adsorptiven Prozesse verlaufen schneller als die Eindiffusion. In diesem Falle erfolgt der Anstieg der Innenkonzentration solange angenähert linear mit der Zeit, als die durch das Adsorptionsgleichgewicht gegebene Konzentration an frei gelöstem Farbstoff sehr klein gegen die Außenkonzentration ist. Die gemessenen Kurven zeigen, daß dieser letztere Fall vorliegt.

Die Berechnung der Permeationskonstanten ist nach Maßgabe der üblichen Definition nur für den Fall sinnvoll, in dem die Innenkonzentration die Außenkonzentration nicht überschreitet. Dies setzt voraus, daß im Innern der Vacuole keine adsorptiven Prozesse stattfinden. Es kann dann die Permeationskonstante h aus der Gleichung

$$J = h\,[c_a - c_i(t)] \tag{2}$$

berechnet werden. Der Strom J ist definiert als

$$\frac{\text{Durchtretende Substanzmenge}}{\text{Flächeneinheit Zeiteinheit}},$$

und folglich die Permeationskonstante als:

$$\frac{\text{Strom}}{\text{Einheit Konzentrationsgefälle}}.$$

Die Annahme adsorptiver Prozesse, die zu einem Verständnis der Tatsache geführt hat, daß die Gesamtinnenkonzentration im Gleichgewichtszustand eine Funktion der Außenkonzentration ist, einen höheren Wert

als dieselbe erreicht und daß der Wert der Außenkonzentration von der Gesamtinnenkonzentration angenähert linear mit der Zeit überschritten wird, verbietet die Berechnung der Permeationskonstanten nach Gleichung (2). Es muß nämlich berücksichtigt werden, daß die zeitliche Zunahme der Konzentration frei gelösten Farbstoffs in der Vacuole der adsorptiven Prozesse wegen eine andere ist, als es bei Fortfall derselben der Fall wäre. Bleibt diese Tatsache unberücksichtigt, so wird die Permeationskonstante eine Funktion der Zeit, welche für $c_i = c_a$ gegen ∞ geht.

Die im folgenden abzuleitende Beziehung zur Berechnung der Permeationskonstanten muß daher der durch die adsorptiven Prozesse verursachten andersartigen Zeitabhängigkeit der Konzentrationszunahme in der Vacuole frei gelösten Farbstoffs Rechnung tragen. Dazu wird von folgender Überlegung ausgegangen: Es sei V das Volumen einer Vacuole, dann ist $V = yF$, wenn F die Grundfläche, y die Schichtdicke ist. Die Gesamtmenge Farbstoff, die sich in der Vacuole befindet, ist $yF\tilde{c}_i$. Vernachlässigt man die Seitenflächen der Zelle, die keine direkte Berührung mit der Außenlösung haben, so ist die zeitliche Änderung dieser Gesamtmenge: $\frac{d}{dt}(yF\tilde{c}_i) = 2J(t)F$, da der Strom durch obere und untere Membran und Plasmawandbelag erfolgt. Der Strom ist der Konzentrationsdifferenz zwischen Innen- und Außenlösung proportional:

$$J = h\,[c_a - c_i(t)].$$

Dann gilt:

$$y\frac{d\tilde{c}_i}{dt} = 2h\,[c_a - c_i(t)]. \tag{3}$$

Im Innern der Vacuole unterliegt der Farbstoff einem Adsorptionsgleichgewicht. Ist C die Gesamtkonzentration der vorhandenen Adsorptionsorte, so ist $C - (\tilde{c}_i - c_i)$ die Konzentration der nicht besetzten Adsorptionsorte. Nach dem MWG ist:

$$\frac{[c_i]\,[C - (\tilde{c}_i - c_i)]}{[\tilde{c}_i - c_i]} = K, \tag{4}$$

K sei die Adsorptionskonstante.

Beschränkt man nun den Anwendungsbereich der abzuleitenden Beziehung auf Konzentrationsbereiche, in denen $C \gg \tilde{c}_i$ ist, d.h. auf Bereiche, in denen die Gesamtinnenkonzentration des Farbstoffs noch nicht ausreicht, um mit dem durch das Adsorptionsgleichgewicht gegebenen Anteil eine Absättigung aller Adsorptionsorte zu erzielen, so ist, da ja $\tilde{c}_i > c_i$ ist, $\tilde{c}_i \dotplus c_i$ gegen C zu vernachlässigen. Die Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von der Außenkonzentration zeigt, daß die Sättigung für Innenkonzentrationen um $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter noch nicht erreicht ist.

c_i errechnet sich dann als:

$$c_i = \frac{K/C}{1 + K/C}\,\tilde{c}_i. \tag{5}$$

Einsetzen von (5) in (3) ergibt:

$$\frac{y}{2h}\,\frac{d\tilde{c}_i}{dt} + \frac{K/C}{1 + K/C}\,\tilde{c}_i = c_a, \tag{6}$$

eine lineare, inhomogene Differentialgleichung mit konstanten Koeffizienten.

Eine Lösung der inhomogenen Gleichung folgt aus den Randbedingungen:

$$\frac{d\tilde{c}_i}{dt} = o \quad \text{für} \quad t = \infty.$$

Es ist:

$$\tilde{c}_i = \frac{c_a\,(1 + K/C)}{K/C}.$$

Für die homogene Gleichung gilt ferner die Randbedingung:

$$\tilde{c}_i = o \quad \text{für} \quad t = o.$$

Die Lösung von (6) setzt sich zusammen aus der Lösung der homogenen Gleichung und einer zu addierenden Lösung aus der Lösungsmannigfaltigkeit der inhomogenen Gleichung:

$$\tilde{c}_i = \frac{c_a\,(1 + K/C)}{K/C}\left(1 - e^{-\frac{2ht\,K/C}{y(1 + K/C)}}\right). \tag{7}$$

Wie ein Vergleich mit (1) zeigt, ist:

$$\sigma = \frac{1 + K/C}{K/C} \quad \text{und} \quad \beta = \frac{2h}{y\sigma}. \tag{7a und 7b}$$

Logarithmieren von (7) ergibt:

$$h = \frac{y\sigma}{2t}\,\ln\left(\frac{\sigma c_a}{\sigma c_a - \tilde{c}_i\,(t)}\right). \tag{8}$$

Die Berechtigung der oben gemachten Annahmen wird durch die Tatsache, daß die völlig unabhängig vorgenommene Ableitung von (7) auf eine Beziehung führt, die der dem gemessenen Kurvenverlauf direkt angepaßten Gl. (1) völlig entspricht, stark gestützt. Darüber hinaus gibt Gl. (7) Aufschluß über die Natur der zunächst willkürlich eingeführten Konstanten σ und β. Wie (7a) zeigt, liefert (7) in der Tat einen Ausdruck für σ, der von der Außenkonzentration unabhängig ist. Gleichzeitig aber wird ein wertvoller Hinweis zum Verständnis der p_H-Abhängigkeit des Speicherungsvermögens gegeben: σ enthält die p_H-abhängige Konzentration C der insgesamt zur Verfügung stehenden Adsorptionsorte.

Gl. (2) ist auf Fälle anwendbar, in denen die Stoffaufnahme ausschließlich der Konzentrationsdifferenz zwischen Innen- und Außenlösung proportional ist und in denen die in die Vacuole gelangten

Teilchen dort in frei gelöster Form erhalten bleiben. Auch beim Vorliegen adsorptiver Prozesse ist die Stoffaufnahme der Konzentrationsdifferenz proportional, die Zeitabhängigkeit der die Konzentrationsdifferenz bestimmenden Innenkonzentration an frei gelöstem Farbstoff ist aber infolge der adsorptiven Prozesse eine andere. Gl. (7) ermöglicht somit die Berechnung einer Permeationskonstanten auch für solche Fälle, in denen die Gesamtinnenkonzentration den Wert der Außenkonzentration weit übersteigt.

3. Scheinbare Konzentrationsabhängigkeit des Speicherungsfaktors σ. Definitionsgemäß gibt σ die Gesamtinnenkonzentration im Gleich-

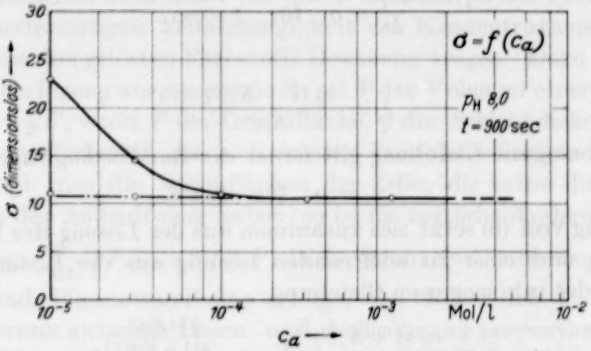

Abb. 8. Speicherungsfaktor σ, aufgetragen gegen die Außenkonzentration. ——— gemessene Kurve, —·—·— auf Membran- und Plasmaspeicherung korrigierter Verlauf.

gewichtszustand in Vielfachen der Außenkonzentration an. Dabei waren der an der Membran und im Plasma gespeicherte Farbstoff mit in $\tilde{c}_i$ einbezogen worden, so daß diese kleine und unveränderliche Konzentration von etwa $6 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter an der Membran und rund $5 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter im Plasma gegenüber mittleren und großen Farbstoffkonzentrationen in der Vacuole keine Rolle spielt. Der so gebundene Farbstoff nimmt jedoch nicht am Adsorptionsgleichgewicht teil und läßt $\tilde{c}_i$, sobald er mit der Vacuoleninnenkonzentration vergleichbar wird, mit fallender c_a zu einem immer größer werdenden Vielfachen der Außenkonzentration werden. Zieht man diesen fest gebundenen Anteil ab, weil seine Vernachlässigung nicht mehr statthaft ist, so ergibt sich in der Tat die strenge Konzentrationsunabhängigkeit von σ.

4. Berechnung der Permeationskonstanten. Durch passende Wahl von β zu $3{,}71 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{sec}^{-1}$ war die durch Gl. (1) beschriebene Funktion dem gemessenen Kurvenverlauf angepaßt worden. Man kann nun die Permeationskonstante auf zweierlei Weise errechnen. Einmal kann man durch Anpassung an den gemessenen Kurvenverlauf das zutreffende β ermitteln. Mit der über 2000 Messungen gemittelten Schichtdicke von $5 \cdot 10^{-3}$ cm und dem gemessenen Speicherungsfaktor σ von 10,8 ergibt

sich nach (7b): $h = 1 \cdot 10^{-4}$ cm sec^{-1}. Eine Kontrolle dieses Wertes erhält man durch folgende Überlegung: Während der ersten Sekunde der Färbezeit dürfte die Stoffaufnahme noch nach Gl. (2) zu beschreiben sein. $\tilde{c}_i(t)$ ist dann noch sehr klein gegen c_a und daher zu vernachlässigen. Berechnung nach (7) ergibt, daß die Zelle in der ersten Sekunde $265 \cdot 4 \cdot 10^{-5}$ g Farbstoff aufnimmt. Dieser Wert ist für eine Außenkonzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter errechnet. Das Molekulargewicht des AO beträgt 265. Zur Bestimmung der mittleren Durchtrittsfläche wurden 1000 Zellen ausplanimetriert. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß der Stoffdurchtritt durch obere und untere Grenzschicht erfolgt und unter Vernachlässigung der Seitenflächen ergab sich eine mittlere Durchtrittsfläche von $4{,}54 \cdot 10^{-6}$ cm^2 je Zelle. Mit der mittleren Schichtdicke von $5 \cdot 10^{-3}$ cm beträgt dann das mittlere Volumen einer Zelle $1{,}135 \cdot 10^{-8}$ cm^3. Einsetzen dieser Werte in (2) ergibt ebenfalls eine Permeationskonstante von $1 \cdot 10^{-4}$ cm sec^{-1}. Einsetzen dieses aus ganz anderen Daten errechneten Wertes in (7b) ergibt ein β von $3{,}71 \cdot 10^{-3}$ sec^{-1} und zeigt umgekehrt, daß die Anpassung durch β genau genug war, um aus (7b) die Permeationskonstante zu errechnen.

Gl. (8) läßt nun für diejenigen Fälle, in denen die gleichen geometrischen Verhältnisse einer einschichtigen Zellfläche bestehen, das langwierige Verfahren, durch Variation von β die durch Gl. (1) beschriebene Kurve dem gemessenen Kurvenverlauf anzupassen, vermeiden. Die Berechnung der Permeationskonstanten durch (8) ergibt beispielsweise für die Zeiten 15 sec, 35 sec und 70 sec, also für Zeiten, in denen die Innenkonzentration bereits weit über der Außenkonzentration liegt, Permeationskonstanten von $9{,}2 \cdot 10^{-5}$, $9{,}75 \cdot 10^{-5}$ und $1{,}044 \cdot 10^{-4}$ cm sec^{-1}. Der mittlere Fehler beträgt $3 \cdot 10^{-6}$ cm sec^{-1} oder rund 3%. Die Übereinstimmung mit dem durch Anpassung von β erhaltenen Wert von $1 \cdot 10^{-4}$ cm sec^{-1} ist als ausreichend zu betrachten. Der geringe systematische Gang der Permeationskonstanten ist ein noch verbliebener Anpassungsfehler.

V. Darstellung der Streuungsverhältnisse.

1. Darstellungsart. Die Streuungsverhältnisse sind in den Abb. 9 und 10 veranschaulicht. Die Darstellungsart ist so gewählt, daß sich ein gleicher Flächeninhalt für alle Kurven ergibt. Die Berechnung der mittleren Fehler der insgesamt 82000 Messungen erschien wenig sinnvoll, zumal die Voraussetzung einer derartigen Behandlung zur statistischen Sicherung, nämlich die rein additive Überlagerung aller in die Konzentrationsberechnung eingehenden Fehler, nicht gegeben ist. Die gewählte Art der Darstellung der Streuungskurven vermag jedoch einen hinreichenden Überblick über die Unterschiedsempfindlichkeit des Verfahrens und die Reproduzierbarkeit der Messungen zu geben. Nach dieser Methode wurden rund 15000 Messungen ausgewertet. Die einzelnen Meßpunkte in den graphischen Darstellungen der Arbeit entsprechen jeweils den Maxima der zugehörigen Verteilungsfunktionen.

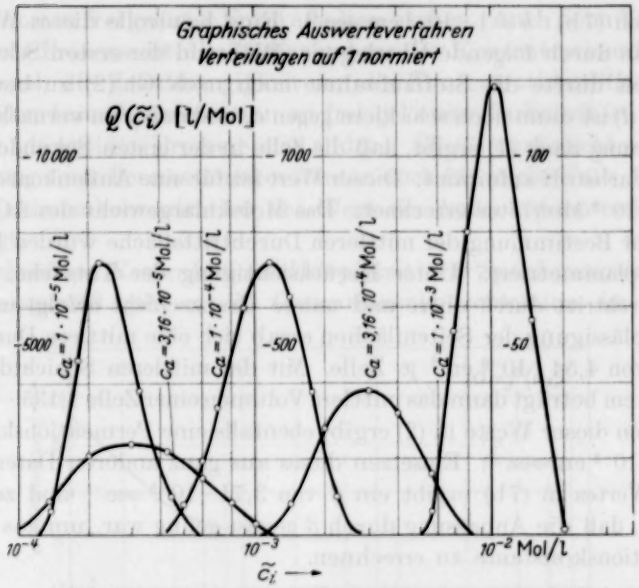

Abb. 9. Wahrscheinlichkeitsdichte für die Gesamtinnenkonzentration in Abhängigkeit von der Gesamtinnenkonzentration für verschiedene Außenkonzentrationen. Färbezeit 900 sec. p_H der Außenlösung: 8,0. Auswertung nach dem graphischen Verfahren, die Gesamtinnenkonzentrationen wurden nicht auf Membran- und Plasmaspeicherung korrigiert.

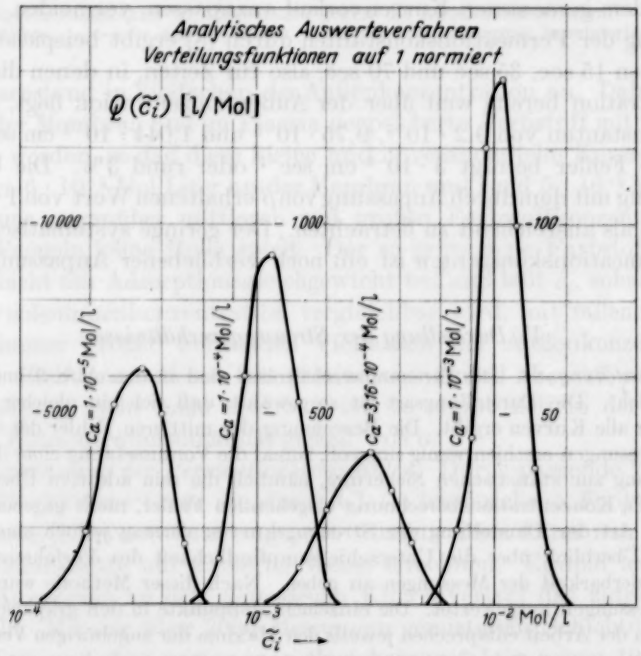

Abb. 10. Wahrscheinlichkeitsdichte für die Gesamtinnenkonzentration in Abhängigkeit von der Gesamtinnenkonzentration. Auswertung nach dem analytischen Verfahren, die Gesamtinnenkonzentrationen wurden nicht auf Membran- und Plasmaspeicherung korrigiert.

2. Ergebnisse des graphischen Auswertungsverfahrens. Die Maxima der Verteilungen stimmen gut mit den errechneten Mittelwerten überein. Wie die logarithmische Darstellung zeigt, ist die relative Streuung um den Mittelwert im ganzen Konzentrationsbereich annähernd gleich.

3. Ergebnisse der analytischen Auswertung. Die Verteilungen, die nach dem analytischen Verfahren errechnet wurden, zeigen ein etwas geringeres Streuungsmaß. Die dimensionslosen Streuungszahlen μ und ν lagen zwischen 1 und 10. Der außerordentlich kleine Wert, der sich daraus für $e^{-(\nu^2+\mu^2)}$ ergibt, wird gerade aufgehoben durch den sehr großen Wert, den $e^{+\frac{(\nu^2+\mu^2\zeta)^2}{\nu^2+\mu^2\zeta^2}}$ annimmt. Die Funktion $\Phi\left(\frac{\nu^2+\mu^2\zeta}{\sqrt{\nu^2+\mu^2\zeta^2}}\right)$ nimmt stets den Wert 1 an.

Eine Verwechslung der dimensionsbehafteten Streuungszahl h mit dem Symbol für die Permeationskonstante h steht wohl nicht zu befürchten. Aus den Werten der dimensionsbehafteten Streuungszahlen von rund $h = 10$ und $k = 2000$ erkennt man, daß die Schwankung der Schichtdicke nur einen sehr geringen Einfluß auf die Schwankung des $\log I_0/I$ ausübt.

D. Besprechung.

Bezüglich der Deutung von Vitalfärbebefunden weichen die Auffassungen der verschiedenen Autoren stark voneinander ab. Diese unterschiedliche Deutung der Versuchsergebnisse ist nicht zuletzt in unserer noch ungenügenden Kenntnis der rein physikalischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der verwendeten Vitalfarbstoffe begründet.

So sind die Dissoziationsverhältnisse erst ganz weniger Farbstoffe einer genauen Untersuchung unterzogen worden. Weitaus schwerwiegender sind die Einwände, die gegen eine Konzentrationsabschätzung durch subjektive Beobachtung von Fluorescenzerscheinungen erhoben werden können. Fluorescenzlöschvorgänge, welche durch Ionenwirkung, Konzentrations-, Adsorptions- und Assoziationsvorgänge hervorgerufen werden können (Förster 1951), belasten derartige Aussagen mit einem hohen Grad der Unsicherheit. Gleichwohl zeigen die in der vorliegenden Arbeit angestellten Messungen, daß die Befunde Struggers (1940) zur AO-Färbung durch die Beobachtungen Drawerts (1952) über das Auftreten von Eigenfluorescenzen an ungefärbten Zwiebelepidermen nicht beeinflußt werden. Die Ansicht Höflers (1946, 1947), wonach eine Grünfluorescenz im Gegensatz zur Rotfluorescenz in hohen Konzentrationen frei gelöster oder adsorbierter AO^+-Kationen auf eine chemische Bindung derselben hinweist, wird von Kölbel (1948) als unbegründete Annahme zurückgewiesen. Soweit die vorliegenden Messungen die Absorption an der Membran und in der Vacuole gespeicherten Farbstoffs betreffen, zeigen sie, daß in allen Fällen, in denen eine Grünfluorescenz zu beobachten war, die von Strugger (1940) angegebenen Konzentrationswerte bestätigt werden können.

Eine subjektive Beurteilung der spektralen Verteilung von Emissionserscheinungen läßt keinerlei sichere Rückschlüsse auf Konzentration und Art des Vorliegens eines Farbstoffs zu. Es ist z. B. noch nicht geklärt,

ob die Rotfluorescenz des AO^+ dem Dimeren zugeordnet werden kann. Eine Emissionsbande des Dimeren dürfte nach der FÖRSTERschen Theorie (FÖRSTER 1946a) infolge Übergangsverbotes gar nicht auftreten. Die Rotfluorescenz setzt erst bei einer Konzentration von etwa $1 \cdot 10^{-4}$ Mol je Liter ein, bei welcher schon rund 90% der vorhandenen Kationen als Dimere vorliegen. Wie SCHMILLEN (1954) an Hand von Abklingzeitmessungen zeigen konnte, macht sich gleichzeitig eine stetige Zunahme derselben bemerkbar. Außerdem kann bei höheren Konzentrationen noch eine Phosphorescenz des AO^+ im adsorbierten Zustande beobachtet werden, die Verhältnisse, die zum Auftreten der letzteren und der Rotfluorescenz führen, sind noch nicht hinreichend geklärt.

HÖFLER (1947) lehnt die von STRUGGER (1940, 1941) vertretene Kationenintrabilität ab und deutet seine Ergebnisse nach der Lipoidtheorie der Permeabilität, nach welcher der Vacuole eine „Ionenfallenfunktion" zukommt. Die eigenen Messungen widersprechen der STRUGGERschen Annahme nicht. Die Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von der Außenkonzentration läßt sich nicht ohne Zwang mit der Ionenfallenfunktion in Einklang bringen.

Die Vielfältigkeit der möglichen Auffassungen läßt es ratsam erscheinen, bei der Deutung der Meßergebnisse mit größtmöglicher Vorsicht zu verfahren. Es soll daher nachdrücklich festgestellt werden, daß im folgenden gegebene Deutungen und Annahmen als nur wahrscheinlich angesehen werden, im Gegensatz zu den gemessenen funktionalen Zusammenhängen und den unmittelbar aus diesen folgenden Aussagen, die durch eine ausführliche statistische Behandlung als gesichert erscheinen.

Die Begriffe, welche zur Erläuterung des Herganges bei der Berechnung der Permeationskonstanten gebraucht werden, sollen im Sinne BOGENS (1953) wie folgt aufgefaßt werden. Demnach wird unter „Permeation" die osmotische Stoffaufnahme verstanden, die dem Konzentrationsgefälle proportional ist und zum Ausgleich desselben führt. Die Permeationsgeschwindigkeit wird von den Durchlässigkeitsverhältnissen der plasmatischen Grenzschicht bestimmt. In allen anderen Fällen ist von Stoffaufnahme zu sprechen. Diese kann durch Adsorption bzw. Austauschadsorption erfolgen. Sie kann in einer Anreicherung der aufgenommenen Substanz über den Konzentrationsausgleich hinaus resultieren. Der Vorgang wird auch als passive Akkumulation bezeichnet. Begrenzt wird er durch die Austauschkapazität und die Diffusionsgeschwindigkeit von und zu den Adsorptionsorten.

Nach diesen Definitionen wäre demnach die Berechnung einer Permeationskonstanten für den Fall der passiven Akkumulation nicht möglich. Für die reine Permeation läßt sich die von FREY-WYSSLING und BOCHSLER (1947) auf Grund des FICKschen Diffusionsgesetzes aufgestellte Gleichung $dx = P_w Q(x - C)dt$ zur Berechnung der Permeationskonstanten P_w verwenden, $(x - C)$ ist die Differenz der Wasserkonzentration und Q die Zelloberfläche. Diese Beziehung entspricht Gl. (2) dieser Arbeit (RASHEWSKY 1948). Auch FREY-WYSSLING und BOCHSLER

weisen nachdrücklich darauf hin, daß diese Formel nur gilt, wenn die freie Energie der Wassermolekeln auf beiden Seiten der Grenzschicht gleich ist. Gl. (8) berücksichtigt nun die abweichend verlaufende Zeitabhängigkeit der das Diffusionsgefälle bestimmenden Konzentration an frei in der Vacuole gelöstem Farbstoff. Es ergibt sich damit auch für den Fall der passiven Akkumulation eine Möglichkeit, die exakte Permeationskonstante zu errechnen. Die Durchlässigkeitsverhältnisse der Grenzschicht sind ja nicht von den akkumulierenden Prozessen abhängig. In diesem Zusammenhang darf darauf hingewiesen werden, daß der errechnete Wert der Permeationskonstanten von rund $1 \cdot 10^{-4}$ cm/sec sehr gut mit den von COLLANDER, LÖNEGREEN und ARHIMO (1943) für Neutralrot bei *Chara* und *Tolypellopsis* angegebenen Werten von 0,57 und 0,67 cm/Std, entsprechend $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ und $1{,}8 \cdot 10^{-4}$ cm/sec übereinstimmt.

Danach läßt sich die Zeitabhängigkeit der Farbstoffaufnahme mathematisch so darstellen, als ob es sich um die durch akkumulierende Prozesse (metaosmotische Effekte) verzögerte Einstellung eines Diffusionsgleichgewichtes handelte. Es wird durch die Messungen sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Geschwindigkeit der Adsorptionsprozesse größer als die der Eindiffusion ist, wodurch die erwähnte Verzögerung zustande kommt. Eine Sättigung tritt jedoch nicht erst nach Besetzung aller zur Verfügung stehenden Adsorptionsorte ein, sondern es besteht ein Adsorptionsgleichgewicht zwischen adsorbiertem und frei gelöstem Farbstoff, wobei die Konzentration des letzteren im Gleichgewichtszustand derjenigen der Außenlösung entspricht. Das ist der Fall, sobald sich das Diffusionsgleichgewicht eingestellt hat. Die Gesamtinnenkonzentration ist dann etwa um den Faktor 10 größer als die Außenkonzentration. In der Literatur verbreitete Angaben, wonach die Innenkonzentration gespeicherter Farbstoffe den Wert der Außenkonzentration um mehrere Zehnerpotenzen übersteigt, können für das Akridinorange und die gewählten kurzen Färbezeiten, während derer eine Schädigung des Protoplasten sehr unwahrscheinlich ist, nicht bestätigt werden. Die Gefahr einer toxischen Wirkung und damit verbundenen höheren Speicherung ist gerade bei Akridinderivaten bei längerer Einwirkungsdauer nicht völlig auszuschließen.

Dagegen stimmt der Wert des Speicherungsfaktors ($\sigma = 10{,}8$) gut mit dem von BAZIN (1947) für die Speicherung von Aminoalkoholen angegebenen Wert von 20 überein und ist gleichzeitig eine Stütze für die Annahme, daß der Speicherung ein VAN DER WAALSscher Adsorptionsvorgang im Sinne der LANGMUIRschen Adsorptionsisotherme zugrunde liegt. BETHE (1950) weist darauf hin, daß Austauschadsorption und VAN DER WAALSsche Bindung streng voneinander zu scheiden seien. Während die VAN DER WAALSschen Kräfte eine p_H-unabhängige Adsorption

bewirken (HESSE und SAUTER 1947), sind die Austauschadsorptionsvorgänge in starkem Maße von den Dissoziationsverhältnissen eines organischen Farbstoffs beispielsweise abhängig. In diesem Zusammenhang muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß gerade bei den organischen Farbstoffmolekülen die intermolekularen Wechselwirkungsenergien gemäß der LONDONschen Formel für die Dispersionskräfte (abgeleitet bei FÖRSTER 1949) außerordentlich von den Dissoziationsverhältnissen abhängen.

Aus der mathematischen Formulierung zur Zeitabhängigkeit der Farbstoffaufnahme wird nicht geschlossen, daß dem Stoffdurchtritt durch das lebende Cytoplasma ein reiner Diffusionsvorgang ohne Energieaufwand von seiten der Zelle zugrunde liegt. Die Möglichkeit anderer Mechanismen, deren zeitbegrenzender Teilprozeß ein Diffusionsvorgang ist, wird offengelassen. Eine über eine Vermutung hinausgehende Aussage über den Mechanismus dieses Stoffdurchtrittes ist auf Grund der vorliegenden Messungen nicht möglich. Die Angabe STRUGGERS (1940), daß der Farbstoff das Plasma sehr rasch passieren kann, wird bestätigt. Eine Analogie zu den Versuchen OLSENS (1950), welcher feststellt, daß die Geschwindigkeit der Ionenaufnahme bei allen Konzentrationen oberhalb $3 \cdot 10^{-6}$ Aequ./Liter unabhängig von der Konzentration ist, besteht nicht. Lediglich der relative Wert des Anstieges der Gesamtinnenkonzentration ist konzentrationsunabhängig, nicht jedoch der absolute Wert des Flusses J.

Die entscheidende Rolle der Vacuolenkolloide für das Zustandekommen der Speicherung wird von fast allen Autoren hervorgehoben, wobei die Auffassung vertreten wird, daß der Farbstoff in adsorptiver Form an die Kolloide gebunden vorliegt.

Nach DRAWERT (1948) ist für die Aufnahme eines Farbstoffs sein Permeationsvermögen im Sinne der RUHLANDschen Ultrafiltertheorie die Grundvoraussetzung. Im übrigen entscheiden über die Speicherung 3 Faktoren, die c_H-Differenz, der Dissoziationsgrad des Farbstoffs und der von diesen beiden festgelegte Verteilungskoeffizient zwischen Membran und Vacuole. Außenmedium und Vacuole verhalten sich in bezug auf die Farbstoffverteilung so, als ob gar kein Plasma da wäre. Für die Richtigkeit dieser Auffassung sprechen nach DRAWERT Modellversuche BUNGENBERG DE JONGS und BANKS (1939), in welchen die passive Akkumulation von Farbstoffen in Gummi arabicum-gefüllten Cellophanbeuteln untersucht wurde. Es wäre damit der Mechanismus des Stoffdurchtritts durch die plasmatische Grenzschicht auf ein reines Diffusionsgeschehen ohne von seiten der Zelle erforderlichen Energieaufwand zurückgeführt. Nach BETHE (1950) beruht die Akkumulation basischer Farbstoffe auf einer Austauschadsorption an den Kolloiden des Zellinnern und der damit verbundenen Überführung in nichtdiffusible Komplexe. Die Beteiligung austauschadsorptiver Vorgänge bei der Ionenaufnahme an der Plasmaoberfläche wird allgemein angenommen.

Die Vorstellung einer Austauschadsorption bringt den Vorteil mit sich, daß die Ladungsverhältnisse am Adsorbens durch den Kation-Kation-Austausch nicht geändert werden. Ein Teil der beobachteten Speicherungseffekte läßt sich nun mit der Annahme, daß auch für die AO-Speicherung ein solcher Austauschmechanismus AO^+ gegen H^+-Ion von Bedeutung ist, leicht verstehen, wobei der Vorgang der Speicherung selbst von einem bisher wenig beachteten Gesichtspunkt aus betrachtet werden kann. Gemäß den von JENNY (1936) auf thermodynamischer Grundlage abgeleiteten Beziehungen zum Mechanismus der Austauschadsorption müßte die Adsorptionswahrscheinlichkeit für H^+-Ionen um ein Vielfaches größer sein als für AO^+-Ionen. Unter diesen Voraussetzungen läßt sich die Angabe DRAWERTs (1948), daß sich basische Farbstoffe stets im sauren Bereich anreichern, verstehen und — wenn auch in einem anderen ursächlichen Zusammenhang — deuten. Unter den erwähnten Voraussetzungen besteht ein Gradient der H^+-Ionenkonzentration. Der einsetzende Konzentrationsausgleich läßt im Zuge der Verschiebung des H^+-Ionenadsorptionsgleichgewichts vorher von H^+-Ionen eingenommene Adsorptionsorte für die Bindung von AO^+-Kationen freiwerden. Dies würde bedeuten, daß in Übereinstimmung mit den Überlegungen JENNYs das weniger adsorbierbare AO^+-Kation immer gerade an den Stellen adsorbiert würde, die von dem adsorbierbareren H^+-Ion freigegeben werden. Die Ansicht von STRUGGER (1940), KÖLBEL (1947), JOHANNES (1950) und DRAWERT (1951), welche alle dem H^+-Ionenkonzentrationsgefälle eine entscheidende Rolle zuordnen, steht in voller Übereinstimmung mit der angestellten Überlegung. KÖLBEL (1947) weist darauf hin, daß auch für die Verteilung der Gesamtinnenkonzentration an H^+-Ionen auf adsorbierten Anteil und frei gelösten Anteil, welch letzterer der aktuellen c_H der Vacuole entsprechen würde, Vorstellungen zutreffen dürften, wie sie oben für das AO^+ angestellt worden sind.

Wenn auch die entwickelten Vorstellungen hier nur für das Akridinorange und eventuell für die H^+-Ionen wahrscheinlich gemacht werden sollen, so gibt es doch Hinweise, daß ähnliche Verhältnisse auch bei der Speicherung anderer Kationen eine Rolle spielen könnten. So ist die Na-Konzentration in der Zelle von *Escherichia coli* allein von der Außenkonzentration abhängig, für das Kalium dürfte die Analogie noch weiter gehen, indem die Hauptmenge in der Zelle in gebundener, nichtdiffusibler Form vorliegt. Ein kleiner Teil ist frei gelöst und steht im Gleichgewicht mit der Konzentration im Medium (MALM 1950, COWIE, ROBERTS und ROBERTS 1949).

Zu den 3 von DRAWERT als entscheidend angeführten Faktoren käme somit die aktuelle c_H der Vacuole als vierter hinzu. In direktem ursächlichen Zusammenhang mit dieser steuert die c_H der Außenlösung die Verteilung des Farbstoffs zwischen Vacuole und Außenmedium. Der Umschlagspunkt von der Membran- zur Vacuolenfärbung wäre nach dieser als Arbeitshypothese vorgeschlagenen Anschauung dem Punkte

gleichzusetzen, an dem die c_H der Außenlösung die aktuelle c_H der Vacuole unterschreitet. Die Hypothese wird den Ansichten STRUGGERs (1936) gerecht, welcher bei seinen Untersuchungen feststellt, daß „nicht eine physikalische Konstante des Farbstoffs, sondern eine Eigenschaft der Zelle für die Lage dieses Punktes verantwortlich sei." Gestützt wird die Hypothese ferner durch die Beobachtungen DRAWERTs (1948) (außerdem DRAWERT 1937 b, STRUGGER 1937, DRAWERT und STRUGGER 1938), wonach sich der erwähnte Umschlagspunkt mit zunehmender Acidität der Vacuole ins saure Gebiet verschiebt.

Ist die c_H der Außenlösung geringer als die aktuelle c_H in der Vacuole, so werden die H^+-Ionen auf dem Wege zur Außenlösung an der Membran adsorbiert und somit zu der einsetzenden Entfärbung beitragen. Die Tatsache, daß der Abfall der Membranfärbung sehr viel steiler erfolgt als die Abnahme der AO^+-Kationenkonzentration, kann einmal darauf hinweisen, daß die Speicherkapazität der Membran klein gegen die der Vacuole ist und somit andererseits der p_H-bedingte Abfall der AO^+-Kationenkonzentration nicht allein für die einsetzende Entfärbung verantwortlich ist. Wie die von ZANKER (1952) gemessene Dissoziationskurve eindeutig zeigt, liegen nämlich bei p_H 8,0 noch rund 90% des Farbstoffs in ionisierter Form vor. Der erwähnte Abfall der AO^+-Kationenkonzentration macht sich in dem Maße erst zwischen p_H 9,0 und 11,0 bemerkbar. Die Verhältnisse erscheinen noch nicht hinreichend geklärt, zumal ja auch isolierte Membranen trotz genügender AO^+-Kationenkonzentration in der Lösung von p_H 8,0 an praktisch keinen Farbstoff mehr binden.

Der Umschlagspunkt braucht keine unmittelbare Beziehung zum IEP der Vacuolenkolloide aufzuweisen. Im Sinne der vorgeschlagenen Hypothese und in Übereinstimmung mit den Messungen spielt dieser für die Speicherung nur insofern eine Rolle, als in dem Speicherungsfaktor σ die Konzentration der überhaupt zur Verfügung stehenden Adsorptionsorte enthalten ist. Dies würde bedeuten, daß die Lage der Reaktion im Innern der Vacuole bezogen auf den IEP zwar nicht das Einsetzen der Speicherung, wohl aber deren Ausmaß bestimmt.

Es wird damit die Frage aufgeworfen, ob ein Überschreiten des IEP der Vacuolenkolloide mit fallender c_H der Außenlösung überhaupt möglich ist. Nach der Ansicht STRUGGERs (1940) vermag dieselbe die Reaktion im Innern der Zelle während kürzerer Versuchszeiten nicht zu ändern. Im Sinne der oben angestellten Überlegungen würde dies bedeuten, daß die aktuelle c_H der Vacuole, welche durch die Konzentration frei gelöster H^+-Ionen gegeben ist, sich nicht wesentlich ändert. Die Bruttokonzentration an H^+-Ionen in der Vacuole kann dagegen weit größeren Veränderungen unterworfen sein, da sich die aktuelle c_H nur nach Maßgabe des Verhältnisses $H^+_{ads.}/H^+_{akt.}$ ändern kann.

Zusammenfassung.

1. Der basische Vitalfarbstoff Akridinorange wurde hinsichtlich seines Absorptionsverhaltens in Abhängigkeit von der Konzentration und der c_H untersucht. Die Meßanordnung wird beschrieben.

2. Eine Anordnung zur mikrospektroskopischen Messung von Farbstoffkonzentrationen in einzelnen lebenden Zellen wird beschrieben.

3. Die Voraussetzungen zur Konzentrationsberechnung werden geklärt und die bei einer statistischen Behandlung zu berücksichtigenden Verhältnisse dargestellt.

4. Es werden ein graphisches und ein analytisches Verfahren zur Auswertung der auftretenden Mischverteilungen beschrieben.

5. Die Farbstoffspeicherung an der Membran wurde in Abhängigkeit von der c_H gemessen. Sie zeigt ein Maximum bei p_H 6,0. Die AO^+-Konzentration an der Membran erreicht an dieser Stelle bei einer Außenkonzentration von $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter den Wert von $1{,}5 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter.

6. Die Farbstoffspeicherung in der Vacuole wurde für die Außenkonzentration $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter in Abhängigkeit von der c_H gemessen.

7. Die Abhängigkeit der Speicherung in der Vacuole von der Außenkonzentration wurde gemessen. Es ergibt sich, daß die Gesamtinnenkonzentration nach Erreichen eines Gleichgewichtszustandes der Außenkonzentration direkt proportional ist. Sie ist stets um den konzentrationsunabhängigen Speicherungsfaktor $\sigma = 10{,}8$ größer als die Außenkonzentration.

8. Die Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von der Färbezeit wurde gemessen. Die Zeit wurde von 10—900 sec variiert. Die Gesamtinnenkonzentration überschreitet den Wert der Außenkonzentration linear mit der Zeit.

9. Die Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von Färbezeit und Außenkonzentration wird durch eine empirische Gleichung beschrieben.

10. Aus unabhängigen theoretischen Überlegungen, deren Berechtigung später untersucht wird, kann eine Differentialgleichung abgeleitet werden, die der empirischen Gleichung entspricht und Aufschluß über die Natur und das Zustandekommen der zunächst willkürlich in diese eingeführten Konstanten gibt. Der Speicherungsfaktor σ ist von der Adsorptionskonstanten eines Adsorptionsgleichgewichts und von der Konzentration der insgesamt zur Verfügung stehenden Adsorptionsorte abhängig, die Konstante β, welche zur Anpassung diente, enthält die Permeationskonstante, den Speicherungsfaktor und die geometrischen Gegebenheiten der Zelle.

11. Die Farbstoffaufnahme läßt sich mathematisch wie eine durch adsorptive Prozesse verzögerte Einstellung eines Diffusionsgleichgewichtes beschreiben.

12. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die adsorptiven Prozesse schneller als die Eindiffusion verlaufen. Schlüsse auf den Mechanismus des Stoffdurchtritts durch das Cytoplasma werden nicht gezogen. Die Abhängigkeit der Gesamtinnenkonzentration von der Außenkonzentration läßt sich nicht mit der „Ionenfallenfunktion" der Vacuole in Einklang bringen.

13. Es wird nachgewiesen, daß mit Hilfe der abgeleiteten Differentialgleichung die Berechnung richtiger Permeationskonstanten auch in Fällen möglich ist, in denen infolge der Beteiligung akkumulierender Prozesse (metaosmotische Effekte) die Gesamtinnenkonzentration bis weit über die Außenkonzentration ansteigt. Dies gelingt durch Berücksichtigung der andersartigen Zeitabhängigkeit der Konzentrationszunahme in der Vacuole.

14. Die Permeationskonstante für das Akridinorange wird bei diesem Objekt (*Allium cepa*, obere Epidermiszellen) zu $9{,}8 \cdot 10^{-5}$ cm/sec mit einer Genauigkeit von $\pm 3\%$ berechnet.

15. Die Meßergebnisse deuten darauf hin, daß der Umschlagspunkt von der Membran- zur Vacuolenfärbung mit der aktuellen c_H der Vacuole identisch ist. Der IEP der Vacuolenkolloide bestimmt nicht das Einsetzen, wohl aber das Ausmaß der Speicherung.

16. Als Arbeitshypothese wird die Annahme einer Austauschadsorption zwischen AO^+-Kationen und H^+-Ionen vorgeschlagen. AO^+-Kationen würden demnach gerade an den Stellen adsorbiert, die von den adsorbierbareren H^+-Ionen freigegeben sind. Die Verteilung der H^+-Ionen ist dagegen von der Außen-c_H abhängig, so daß die p_H-Abhängigkeit der Speicherung von einem bisher wenig beachteten Gesichtspunkt aus betrachtet werden kann. Die von DRAWERT (1948) betonte entscheidende Bedeutung des c_H-Gefälles entspricht dieser Auffassung. DRAWERTs Beobachtung, daß sich basische Farbstoffe unter den gegebenen Versuchsbedingungen immer in einem Bereich höherer Acidität anreichern, wird bestätigt. Als Ursache wird jedoch nicht der höhere Dissoziationsgrad des Farbstoffs in der saureren Phase angesehen, sondern die Tatsache, daß unter den erwähnten Verhältnissen stets ein Gradient der H^+-Ionenkonzentration vorhanden ist. Der einsetzende Konzentrationsausgleich läßt im Zuge der Verschiebung des H^+-Ionenadsorptionsgleichgewichtes Bindestellen für die weniger adsorbierbaren AO^+-Kationen freiwerden.

Herrn Prof. Dr. HARDER möchte ich an dieser Stelle für sein weitgehendes Verständnis und Entgegenkommen bei der Überlassung des Themas herzlich danken, Herrn Prof. Dr. v. DENFFER für die Anregung dazu und sein stets förderndes Interesse, sowie Herrn Prof. BOGEN für fruchtbringende Diskussionen. Herrn Dr. habil. BERTRAM gilt mein Dank für seine Unterstützung bei der mathematischen Behandlung der Streuungsprobleme, Herrn Prof. Dr. STUBBE für die Bereitstellung von sortenreinem Zwiebelmaterial und nicht zuletzt allen denen, die mir mit der Überlassung von Meßgeräten so hilfreich zur Seite gestanden haben.

Literatur.

Bazin, S.: C. r. Soc. Biol. Paris **141**, 224 (1947). — Bertram, G.: Habil.-Vortr. T. H. Hannover Juni 1953. — Bethe, A.: Naturwiss. **37**, 177 (1950). — Bogen, H. J.: Arch. Mikrobiol. **18**, 170 (1953). — Fortschr. Bot. **14**, 256 (1953). — Bukatsch, F., u. M. Haitinger: Protoplasma (Wien) **34**, 515 (1940). — Bungenberg de Jong, H., u. O. Bank: Protoplasma (Wien) **33**, 512 (1939). — Collander, R., H. Lönegreen u. E. Arhimo: Protoplasma (Wien) **37**, 527 (1943). — Cowie, D. B., R. B. Roberts and J. Z. Roberts: J. cellul. a. comp. Physiol. **34**, 243 (1949). — Drawert, H.: Flora (Jena) **132**, 91 (1937b). — Z. Naturforsch. **3b**, 111 (1948). — Protoplasma (Wien) **40**, 85 (1951). — Z. Bot. **40**, 407 (1952). — Drawert, H., u. S. Strugger: Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 43 (1938). — Förster, Th.: Naturwiss. **33**, 166 (1946a). — Biophys. Arbeitstagg Mosbach. Vortrag erschienen in „Zwischenmolekulare Kräfte". Karlsruhe: Braun 1949. — Fluoreszenz organischer Verbindungen. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 1951. — Frey-Wyssling, A., u. A. Bochsler: Experientia (Basel) **3**, 30 (1947). — Hesse, G., u. O. Sauter: Naturwiss. **34**, 250 (1947). — Höfler, K.: C. r. Acad. Sci. Paris **223**, 335 (1946). — Mikroskopie (Wien) **2**, 13 (1947). — Jenny, H.: J. Physic. Chem. **40**, 501 (1936). — Johannes, H.: Arch. Mikrobiol. **15**, 53 (1950). — Kölbel, H.: Z. Naturforsch. **2b**, 382 (1947); **3b**, 442 (1948). — Kortüm, G.: Z. physik. Chem. B **33**, 1 (1936a); **34**, 255 (1936b). — Malm, M.: Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 376 (1950). — Olsen, C.: Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 152 (1950). — Rabinowitsch, E., and L. F. Epstein: J. Amer. chem. Soc. **63**, 69 (1941). — Rashewsky, N.: Math. Biophysics, S. 10. Univ. Chicago Press 1948. — Sanden, H. v.: Praktische Mathematik. Leipzig: Teubner 1948. — Schmillen, A.: Tagg phys. Ges. Hessen-Mittelrhein, Stuttgart 1954, Vortrag „Fluoreszenz des Akridinorange". — Strugger, S.: Protoplasma (Wien) **26**, 56 (1936). — Arch. exper. Zellforsch. **19**, 199 (1937). — Jena. Z. Naturforsch. **73**, 97 (1940). — Flora (Jena) **135**, 101 (1941). — Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover: Schaper 1949. — Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie, 2. Aufl. Berlin: Springer 1949. — Zanker, V.: Z. physik. Chem. **199**, 4 (1952).

Dr. Peter Bartels, Gießen, Bismarckstraße 16.

Planta, Bd. 44, S. 370—411 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ZUR MORPHOLOGIE UND PHYSIOLOGIE DER SPORANGIEN LEPTOSPORANGIATER FARNE*.

Von

KONRAD HAIDER.

Mit 11 Textabbildungen (75 Einzelfiguren).

(Eingegangen am 2. Juni 1954.)

Einleitung.

So vielfach die Sporangien der leptosporangiaten Farne auch in Hinsicht auf die Beziehungen zwischen ihrem Bau und ihrer Öffnungsweise untersucht worden sind, bestehen doch noch beträchtliche Lücken in unserer Kenntnis. Wir wissen nichts über die Funktion des Epistomium, über die Tüpfelbildung in den Wänden der Anuluszellen, über den Weg des Transpirationswassers in der Sporangienwand; und hier einige Einsicht zu gewinnen, wird im folgenden versucht. Sogar die Vorstellung von dem Zusammenwirken zwischen dem dickwandigen, bisher allein für aktiv gehaltenen Anulusteil und dem Stomium muß, wie sich im Lauf der Untersuchung zeigte, revidiert werden.

Eine Vertiefung der Einsicht in die Biologie der Sporangien war auch zu erwarten von einem genaueren Vergleich der verschiedenen Abwandlungen des Grundtypus mit seinen aktiven und passiven Wandzellen. Dabei stellte sich von selber die Frage nach der Beziehung zwischen Sporangienbau und Verwandtschaft, und so wurden wir von der ursprünglichen physiologischen Fragestellung bis zu Betrachtungen über die Systematik der Polypodiaceen im weiteren Sinn geführt.

Die Arbeit wurde am Botanischen Institut der Universität München durchgeführt auf Anregung von Herrn Prof. Dr. O. RENNER, dem für die beständige Unterstützung aufs herzlichste gedankt wird.

I. Zur Morphologie der Sporangien.

1. Literaturübersicht.

Als Typus des Polypodiaceensporangiums wird in fast allen Lehrbüchern das von *Dryopteris (Aspidium) filix mas* dargestellt. Sehen wir uns in der Literatur nach anderem Bildmaterial um, so finden wir in den exotische Formen behandelnden systematischen Werken von MARTIUS (1828—1834), von KUNZE (1837, 1840—1847), von FÉE (1854—1873), von MOORE (1857), von HOOKER (1850), von SMITH (1875), von HOOKER und BAKER (1883) zwar von vielen Arten das Sporangium abgebildet, aber so ungenau und schematisch, daß unterscheidende Züge kaum zum Ausdruck kommen; häufig ist nur der Anulus von der Rückseite ohne Stomium gezeichnet. Wo das Stomium gezeigt wird, ist es schematisiert oder undeutlich. METTENIUS (1856, 1857—1859) stellt kein Sp. dar außer dem von *Plagiogyria* (1858, Tafel 15), dieses aber gut. Eine nicht genug zu rühmende Ausnahme macht ein Werk, das am Anfang dieser Reihe steht: H. SCHOTT, Genera Filicum (Wien 1834). Hier sind von einer ganzen Anzahl von Farnen die Sporangien, mit verschiedenen Typen der Stomiumgestaltung (vgl. unten), erstaunlich genau gezeichnet.

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

In der über 500 Seiten starken Darstellung der europäischen Farnpflanzen von LUERSSEN in RABENHORSTS Kryptogamenflora (1889) sind die Sp. von nicht mehr als 3 Arten der Polypodiaceen abgebildet: von *Dryopteris filix mas* (S. 22), von *Woodsia hyperborea* (S. 23), von *Asplenium Heufleri* (S. 251), und sonst die von *Osmunda regalis* und *Hymenophyllum tunbridgense*. CHRIST in „Farnkräuter der Erde" (1897) bildet ganz wenige Sp. ab. Auch DIELS bringt in der sehr in Einzelheiten gehenden Bearbeitung der Farne in den Natürlichen Pflanzenfamilien (1902 bzw. 1898) Sp. von ganzen 6 Gattungen: *Diacalpe* und *Peranema* (S. 160), *Dipteris* (S. 202), *Ceterach* (S. 243), *Plagiogyria* (S. 281), *Polypodium* (S. 307), alle nach anderen Autoren, meist uncharakteristisch schräg vom Rücken gesehen; nur die von METTENIUS übernommene Figur 149 zeigt den schiefen Ring von *Plagiogyria* deutlich. GIESENHAGEN, damals Mitarbeiter GOEBELS, stellt in seiner Monographie der Gattung *Niphobolus* (1901) keine Sp. dar. 1904 hat SCHNARF, ein Schüler R. v. WETTSTEINS, eine große Zahl von *Asplenium*-Arten und von Angehörigen anderer Gattungen (ebenso auch Cyatheaceen) im Hinblick auf die Verwendung der Sporangiengestaltung für taxonomische Zwecke untersucht und einige gute Bilder gegeben. Er vermag mit Sicherheit die Gattungen *Athyrium* und *Diplazium* von den *Asplenieae* loszulösen; und seine Arbeit hätte wegweisend werden können, wenn sie beachtet worden wäre. BOWER erwähnt sie nie und GOEBEL erst 1930. Auf SCHNARF fußt wohl, was die Analyse der Sp. betrifft, die Bearbeitung der Farne durch CHRIST (1908) in dem Bericht R. v. WETTSTEINS über eine Expedition nach Südbrasilien; hier finden sich gute Sporangienzeichnungen von *Polypodium*, *Asplenium*, *Elaphoglossum*, die ohne den Vorgang SCHNARFS wohl nicht denkbar sind. Aber noch in der dritten Auflage von R. v. WETTSTEINS „Handbuch der systematischen Botanik" ist von typischen Polypodiaceen nur *Dryopteris filix mas* abgebildet (nach KNY). LOTSY (1909) kopiert seine Bilder von anderen Autoren und nicht sehr schön. HEGIS „Flora von Mitteleuropa" (Band 1, 1906 und 1935) bringt wenige meist undeutliche Bilder von Sp. C. CHRISTENSEN bildet in seiner Monographie der Gattung *Dryopteris* (1917) die Sporangien zweier Arten so klein und schematisch ab, wie kaum die ältesten Autoren tun. Die modernste Darstellung der Systematik der Farne, „Genera Filicum, The Genera of Ferns" von COPELAND (1947), spricht oft von der Zellenzahl des Anulus, nur gelegentlich von der des Stomium, des Epistomium und Hypostomium, ist aber nicht bebildert. In einer ganz rezenten Flora von Nordafrika, bei R. MAIRE (1952), sind von allen Arten der Polypodiaceen die Maße der Sporen, von einigen auch die Sporenzahl im Sporangium mitgeteilt, aber vom Stomium ist nie die Rede.

Wenden wir uns von der systematischen und floristischen zur vergleichend morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Literatur. SCHLEIDEN (1850, S. 95; 1861, S. 319) gibt ein Bild der reifen Kapsel von „*Scolopendrium officinarum*" (gemeint ist wohl *Ceterach off.*), das die von SCHNARF später wieder entdeckte Besonderheit der *Asplenium*-Verwandten klar ausdrückt. Aber SACHS stellt in seinem „Lehrbuch der Botanik" (1868, S. 318; 1874, S. 429; in der Neubearbeitung von GOEBEL 1887, S. 240) *Dryopteris filix mas* dar und gibt ein sehr schönes Bild der „Seitenansicht eines fast reifen Sporangiums"; und auch KÜNDIG (1888) behandelt nur *Dryopteris filix mas* eingehend. Vollends zum klassischen Beispiel der Polypodiaceen wurde der Wurmfarn durch die in vielen Lehrbüchern wiedergegebenen Bilder, die KNY (1895) von der Entwicklungsgeschichte dieser Art, nicht nur ihres Sp., als Wandtafeln (mit ausführlichem illustrierten Text) veröffentlicht hat. Kurz zuvor (1893) hatte C. MÜLLER das Sp. von *Asplenium trichomanes* beschrieben, und seine sehr bestimmt auftretenden Zeichnungen haben SADEBECK (1902, S. 81) und später BOWER (1923, S. 245; 1928, S. 140; 1935, S. 414) propagiert, allerdings der erste Autor hauptsächlich wegen der Entwicklungsgeschichte, der zweite wegen der Darstellung des Stiels; wie wir später sehen

werden, verdienen sie das nicht ganz, denn sie bleiben in der Wiedergabe des St. hinter SCHLEIDEN zurück. SCHNARF behandelt die Entwicklungsgeschichte der Sp. von *Blechnum occidentale*, STRASBURGER wählt in seinem „Botanischen Praktikum" (1887, S. 554) *Scolopendrium vulgare* als Beispiel.

In seiner morphologischen Monographie der Moose und Farne (1895, 1905) begnügt sich CAMPBELL mit der Darstellung des Sp. von *Polypodium falcatum*. Ziemlich wenig hat GOEBEL in seiner „Organographie", die größeren Gesetzmäßigkeiten nachgeht, sich mit der Mannigfaltigkeit des Polypodiaceensporangiums beschäftigt. Noch in der 2. Auflage (1925) bildet er nur das Sp. von *Platycerium* ab. Im Rahmen seiner „Archegoniatenstudien" berichtet er in seinem Aufsatz über die Vittariaceen und Pleurogrammaceen (1924) von besonderen Gestaltungen des St., und er bemängelt (S. 93), daß in den systematischen Werken und ebenso in Lehrbüchern das St. „meist höchst ungenau" abgebildet ist. In einem Aufsatz über Roraimafarne (1929) bildet er das Sp. einer *Pleurogramme* groß ab, und dieses Bild übernimmt er auch in die 3. Auflage seiner Organographie (1930, S. 1328). An dieser Stelle weist er darauf hin, daß nach SCHNARF (1904) den *Asplenium*-Verwandten das Epistom fehlt. Auch Schülerarbeiten aus dieser Zeit schenken den Sp. der Polypodiaceen Aufmerksamkeit. SCHLUMBERGER (1911) gibt keine Sp.-Bilder; EVA SCHUMANN (1915) behilft sich ohne Zeichnungen von reifen Zuständen; P. ARBALÀEZ (1928) bringt ungewöhnlich gute, ALICE LANDMANN (1931) teilweise weniger schöne Figuren.

Weitaus am eingehendsten hat F. O. BOWER bei seinen über Jahrzehnte ausgedehnten Farnstudien auch die Sp. der Polypodiaceen untersucht und dargestellt, erst in den Abhandlungen über einzelne Genera, z. B. in „Studies in the Phylogeny of the Filicales" (1907—1918), dann in dem dreibändigen Werk „The Ferns" (1923, 1926, 1928). Auf dieses Standardwerk, das letzten Endes auch der Systematik der Farne dient, werden wir oft verweisen müssen. Sein letztes Buch „Primitive Landplants" (1935) geht ebenso wie ein früheres: „The Origin of a Landflora" (1908) nicht mehr in Einzelheiten als GOEBELS Organographie. In dem von VERDOORN herausgegebenen Manual of Pteridology (1938) ist dem Sp. der Pteridophyten nur eine Seite gewidmet.

2. Gestalt und Größe der Sporangien.

Gestalt und Größe der Sp. variieren in ein und demselben Sorus etwas, doch im allgemeinen nicht viel; nach E. SCHUMANN (S. 228) sind die Sp. von *Leptochilus zeylanicus* sehr verschieden groß, mit 13—20 Anuluszellen. Von der Breitseite gesehen sind die Sp. fast kreisrund oder elliptisch mit etwas größerer Längs- als Querachse; besonders schlank erscheinen sie bei *Polypodium crassifolium* (= *Pessopteris crassifolia* bei COPELAND, Fig. 50) mit einem Achsenverhältnis von etwa 3:2. Die Dicke der Sp. ist fast immer geringer als die Breite; fast kugelig sind z. B. die von *Pityrogramma (Ceropteris) calomelanos* (Fig. 4), von *Asplenium ruta muraria*. Die Länge der Sp. bewegt sich bei den von uns untersuchten Formen zwischen 170 μ (*Pteridium aquilinum*; Fig. 14) und 400 μ (*Pessopteris crassifolia*, ähnlich *Acrostichum aureum*; Fig. 16), besonders häufig sind Maße um 250 μ.

3. Die Gliederung des Ringes (Anulus).

Wenn von einem unvollständigen und von einem vollständigen Ring gesprochen wird, je nachdem ob der Ring vom Stiel unterbrochen ist

oder nicht (vgl. z. B. BOWER 1926, S. 254, Fig. 251 von *Pteris*), heißt das, daß auch die dünnwandige Region zum Ring gerechnet wird; COPELAND z. B. läßt allerdings im Gegensatz zu diesem Brauch der Morphologen nur die dickwandigen Zellen als Anuluszellen gelten und zählt gewöhnlich nur sie ab. Wir halten uns an die Begriffsbestimmung von GOEBEL (1930, S. 1328 unten) — die der Autor selbst freilich nicht ganz konsequent handhabt, wenn er S. 1328 oben unter „12 Ringzellen" nur die dickwandigen Elemente versteht — und BOWER (1935, S. 417) und werden den bei der Öffnungsbewegung des Sp. vor allem aktiven dickwandigen Teil des Ringes, um jedes Mißverständnis auszuschließen, auf Vorschlag von Prof. RENNER (1954) als Bogen bezeichnen im Gegensatz zu dem dünnwandigen Bezirk, den GOEBEL die Stomiumregion nennt. Innerhalb dieser Region ist das eigentliche Stomium durch verhältnismäßig starke Wände gegenüber den dünnwandigen, oben und unten anstoßenden Zellgruppen,dem Epistom(ium) und dem Hypostom(ium), gekennzeichnet. Zuerst ist das Hypostomium allein mit einem besonderen Namen belegt worden, von C. MÜLLER, weil er sich mit dem reifen Sp. eingehender nur an *Asplenium trichomanes* beschäftigt hat, bei dem der Bogen ohne scharfe Grenze in das St. übergeht. Später wurde, in Analogie zu dem MÜLLERschen Terminus, die z. B. bei *Dryopteris filix mas* sehr ausgeprägte dünnwandige Zone zwischen Bogen und St. das Epistomium genannt. Das Wörterbuch von C. K. SCHNEIDER bzw. LINSBAUER (1917, S. 654) kennt nur das Hypostomium.

Meist nimmt der Bogen etwa zwei Drittel des Ringumfanges ein; bei *Polypodium vulgare* (Fig. 47) dagegen macht der Bogen fast nur die Hälfte des Ringes aus, die andere Hälfte fällt auf die Stomiumregion. Das St. liegt meist in der Mitte des Kapselrandes, bei *Platycerium bifurcatum* (Fig. 46, 66, 67) ist es durch die große Ausdehnung des Epistomium nahe an den Stielansatz herangerückt.

4. Die Orientierung des Ringes.

Ausgesprochen schief verläuft der vollständige Ring bei den Cyatheaceen wie *Alsophila excelsa* (Fig. 56), bei den „Dicksoniaceen" wie *Dicksonia antarctica* (Fig. 57) und *Cibotium* (Fig. 9—11), bei *Plagiogyria* (Fig. 8), die darnach von KUNZE (1849) den Namen bekommen hat[1], auch noch bei *Cryptogramma crispa* (Fig. 1), bei *Odontosoria retusa* (BOWER 1928, S. 30, Fig. 599) und *Lonchitis hirsuta* (Fig. 12). Aber ganz leicht schräg, und ohne daß er sich schließt, findet man den Ring auch bei einigen *Polypodium*-Arten wie *P. crassifolium* (Fig. 50), *P. punctatum* (Fig. 48), nach GOEBEL (1930, S. 1328) bei *Pleurogramme Luetzel-*

[1] Gyrus nennen die alten lateinisch schreibenden Autoren den Ring; KUNZE sagt „Gliederring".

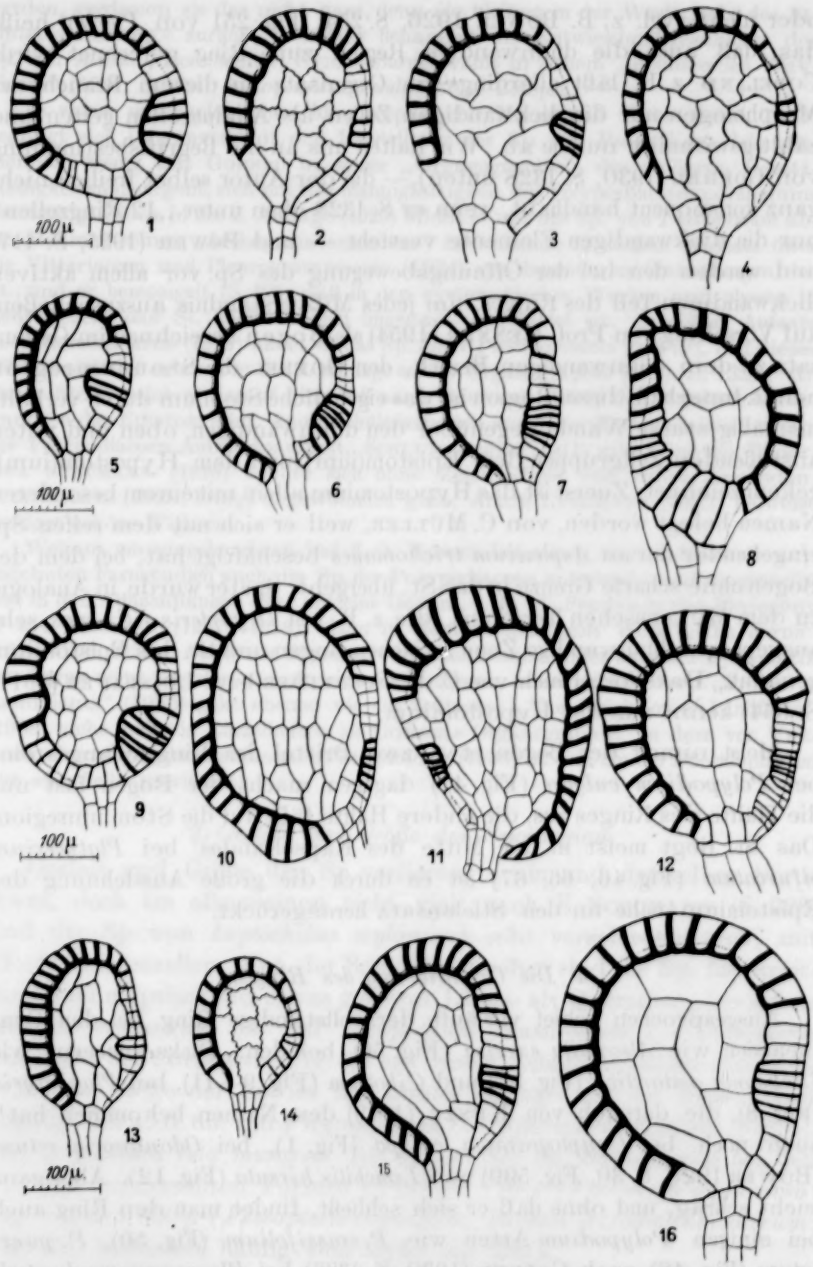

Abb. 1. Fig. 1. *Cryptogramma crispa* (L.) R. BR. — Fig. 2. *Coniogramme japonica* (THBG.) DIELS. — Fig. 3. *Hemionitis arifolia* (BURM.) MOORE. — Fig. 4. *Pityrogramma (Ceropteris) calomelanos* (L.) LINK. — Fig. 5. *Adiantum peruvianum* Kl. — Fig. 6. *Doryopteris ludens* (WALL.) J. SM. — Fig. 7. *Pellaea rotundifolia* (FORST.) HOOK. — Fig. 8. *Plagiogyria euphlebia* (KUNZE) METT. — Fig. 9. *Cibotium glaucum* (SM.) HOOK et ARN. — Fig. 10 u. 11. *Cibotium Schiedei* SCHLECHT et CHAM. — Fig. 12. *Lonchitis hirsuta* L. — Fig. 13. *Pteris cretica* L. — Fig. 14. *Pteridium aquilinum* (L.) KUHN. — Fig. 15. *Microlepia speluncae* (L.) MOORE. — Fig. 16. *Acrostichum aureum* L.

burgiana, bei *Platycerium aethiopicum* (BOWER 1928, S. 212, Fig. 731), noch etwas schwächer bei *Platycerium bifurcatum* (Fig. 46). Wegen der vielen Zwischenformen und allmählichen Übergänge wird dem Unter-

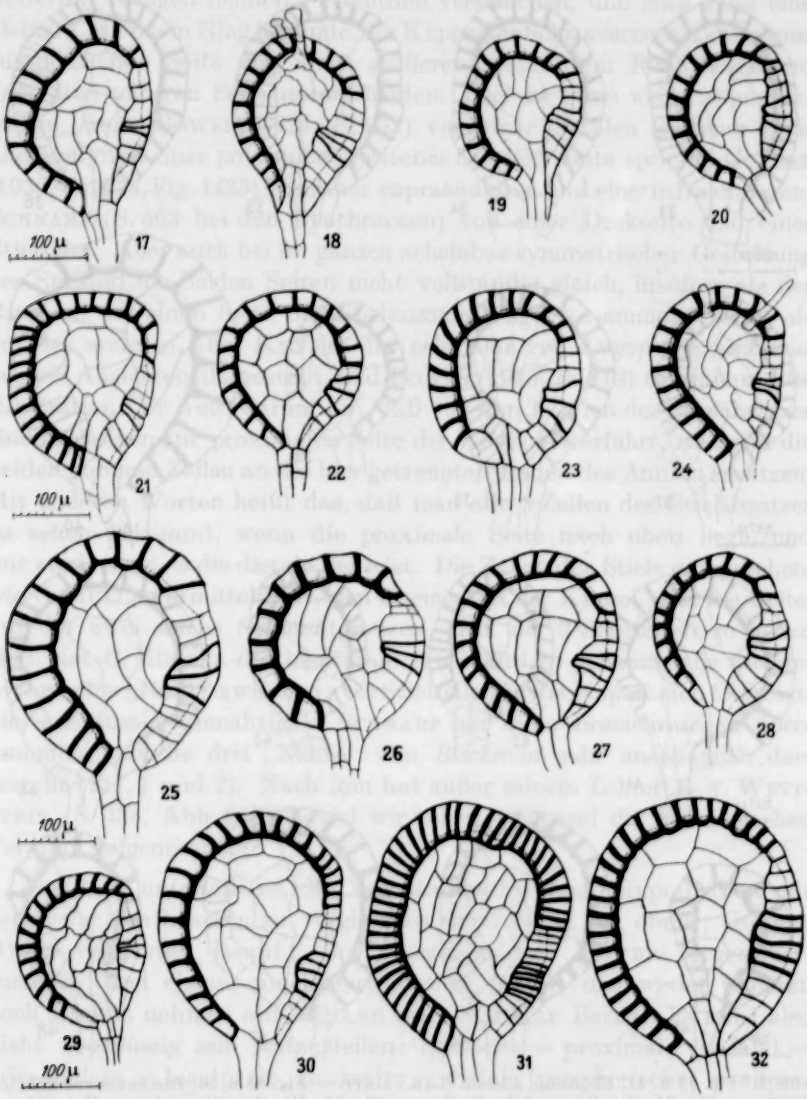

Abb. 2. Fig. 17. *Davallia dissecta* J. SM. — Fig. 18. *Leucostegia immersa* (WALL.) PRESL. — Fig. 19. *Nephrolepis exaltata* (L.) SCHOTT. — Fig. 20. *Dryopteris filix mas* (L.) SCHOTT. — Fig. 21. *Polystichum falcatum* (L. f.) DIELS. — Fig. 22. *Didymochlaena truncatula* (SW.) J. SM. — Fig. 23. *Phegopteris Robertiana* (HOFFM.) A. BR. — Fig. 24. *Phegopteris decursivepinnata* (VAN HALL) FÉE. — Fig. 25. *Fadyenia Fadyenii* (METT.) C. CHRIST. — Fig. 26. *Elaphoglossum pachyphyllum* (KUNZE) C. CHRIST. — Fig. 27. *Athyrium filix femina* (L.) ROTH. — Fig. 28. *Diplazium proliferum* (LAM.) THOUARS. — Fig. 29. *Cystopteris fragilis* (L.) BERNHARDI. — Fig. 30. *Matteuccia struthiopteris* TODARO (*Struthiopteris germanica* L.). — Fig. 31. *Matteuccia (Struthiopteris) orientalis* (HOOK.) TREV. — Fig. 32. *Onoclea sensibilis* L.

schied zwischen dem „vollständigen" und „unvollständigen" Ring nicht mehr so viel Gewicht beigelegt wie früher (vgl. GOEBEL, l. c., S. 1329; COPELAND).

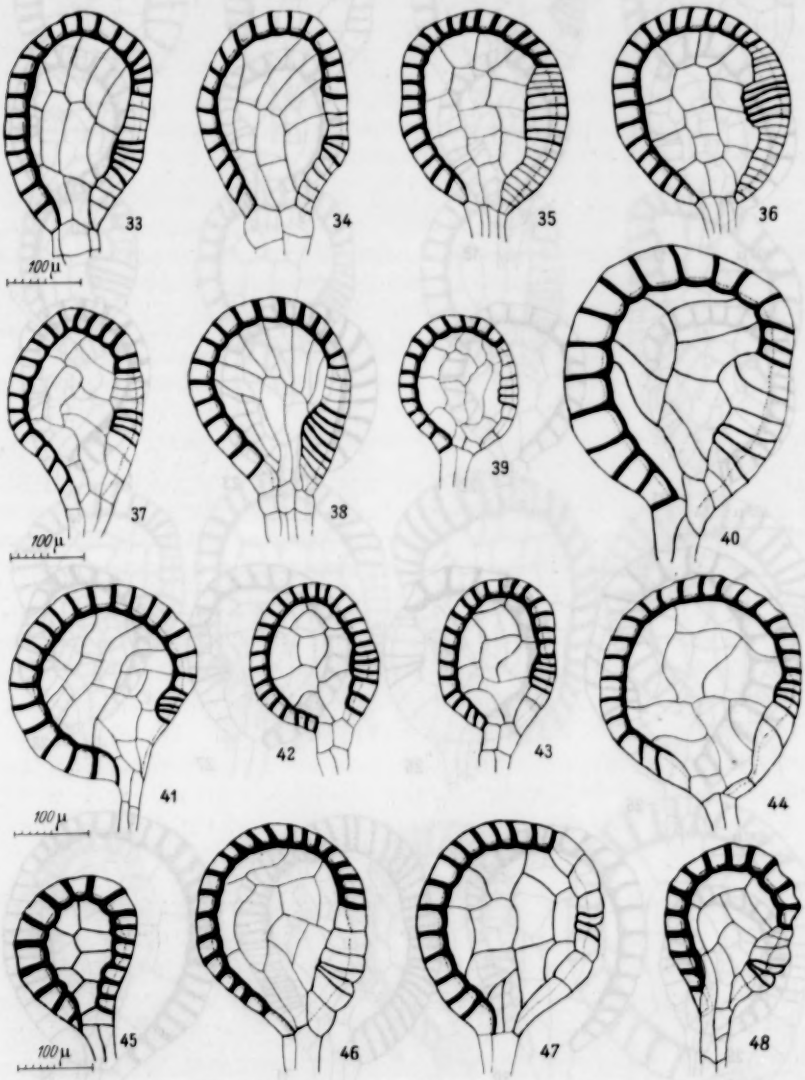

Abb. 3. Fig. 33 u. 44. *Blechnum gibbum* (LAB.) METT. — Fig. 35 u. 36. *Blechnum spicant* (L.) WITH. — Fig. 37. *Doodia caudata* R. BR. — Fig. 38. *Woodwardia radicans* (L.) SM. — Fig. 39. *Stenochlaena tenuifolia* (DESV.) MOORE. — Fig. 40. *Stenochlaena sorbifolia* (L.) J. SM. — Fig. 41. *Asplenium nidus* L. — Fig. 42. *Ceterach officinarum* LAM. et DC. — Fig. 43 u. 44. *Scolopendrium vulgare* SM. — Fig. 45. *Dipteris conjugata* REINW. — Fig. 46. *Platycerium bifurcatum* (CAV.) C. CHRIST. — Fig. 47. *Polypodium vulgare* L. — Fig. 48. *Polypodium punctatum* (L.) SW.

5. Die Wangen der Sporangien.

Wo der Ring vollständig ist und schief verläuft, sind die beiden Breitseiten — wir wollen sie nach dem Vorschlag von Prof. RENNER weiterhin Wangen nennen — deutlich verschieden, und man kann eine kleinere, über dem Ring liegende, der Kappe des Schizaeaceensporangiums entsprechende Seite von einer größeren, unter dem Ring liegenden, dem Stiel näheren Seite unterscheiden. Hier ist ohne weiteres zu verstehen, wenn BOWER (1924, S. 252) von einer distalen (seltener peripheralen) und einer proximalen (seltener basalen) Seite spricht, GOEBEL (1930, S. 1328, Fig. 1435) von einer supraanularen und einer infraanularen, SCHNARF (S. 563 bei den Cyatheaceen) von einer Deckseite und einer Stielseite. Aber auch bei im ganzen scheinbar symmetrischer Gestaltung der Sp. sind die beiden Seiten nicht vollständig gleich, insofern als der Ring auf der einen Seite des Stielansatzes enger zusammenschließt als auf der anderen. Bei KNY ist das sehr klar von *Dryopteris filix mas* in zwei Ansichten dargestellt, und BOWER (1935, S. 418) übernimmt die Illustration. Er weist darauf hin, daß von den 3 Zellen des Stielansatzes eine nach oben zur proximalen Seite der Wand weiterführt, während die beiden anderen Zellen an die hier getrennten Enden des Anulus ansetzen. Mit anderen Worten heißt das, daß man alle 3 Zellen des Stielansatzes zu sehen bekommt, wenn die proximale Seite nach oben liegt, und nur zwei, wenn es die distale Seite ist. Die Zellen des Stiels entsprechen, wie C. MÜLLER ermittelt hat, den Segmenten der Kapsel, und die Seite, auf der zwei solche Segmentgrenzen, also alle 3 Stielzellen zu sehen sind, hat C. MÜLLER die bisuturale (zweinähtige) genannt, die andere, wo nur eine „Naht" zwischen zwei Stielzellen in die Kapsel sich fortsetzt, die unisuturale (einnähtige). SCHNARF hat diese Bezeichnungen übernommen und die drei „Nähte" von *Blechnum* sehr anschaulich dargestellt (Fig. 1 und 2). Nach ihm hat außer seinem Lehrer R. v. WETTSTEIN (S. 436, Abb. 289), soviel wir sehen, niemand die MÜLLERschen Termini aufgenommen.

SCHNARF unterläßt es, die Verhältnisse bei den Polypodiaceen mit denen der Cyatheaceen zu vergleichen (über die C. vgl. oben); GOEBEL (1930) verzichtet darauf, seine Termini denen BOWERS gegenüberzustellen, und ebenso umgekehrt BOWER (1935); und weder GOEBEL noch BOWER nehmen auf MÜLLER oder SCHNARF Bezug. Es wird also nicht überflüssig sein festzustellen: Stielseite = proximale (basale) = infraanulare = bisuturale, Deckseite = distale (peripherische) = supraanulare = unisuturale Seite. Am zweckmäßigsten erscheinen uns die von GOEBEL gewählten Ausdrücke. Seine Zeichnung von *Pleurogramme Luetzelburgiana* (1930, S. 1328) zeigt die supraanulare Seite mit weit auf den Stiel eingreifendem Ring.

Wenn die supraanulare Seite des Sp. nach oben sieht, kann das St. sowohl rechts wie links liegen. KÜNDIG spricht von rechts- und linksläufigen Sp., die in ein und demselben Sorus vorkommen, oder von ebensolcher Anordnung der Segmente. In der neueren Literatur ist von dieser Alternative nicht die Rede. Wir haben die Sp. fast immer mit nach rechts gewendetem St. dargestellt, und dabei kommt zufallsgemäß bald die supra-, bald die infraanulare Seite nach oben.

Die Seitenwände der Wangenzellen sind meist gerade oder leicht geschweift, selten gewellt, so bei *Pteridium aquilinum* (Fig. 14) und

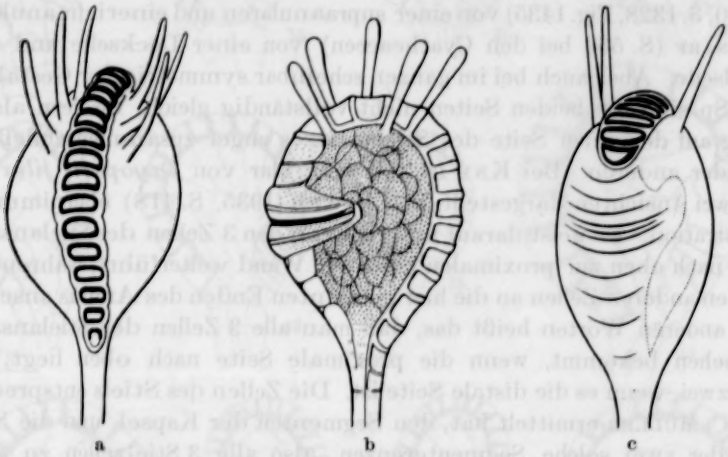

Abb. 4 a—c. Sporangium von *Polypodium crassifolium*, nach SCHOTT 1834, Tafel 5, etwas verkleinert.

Leucostegia immersa (Fig. 18). Die Zahl der WZ ist auf den beiden Seiten nicht gleich; bei *Dryopteris filix mas* ist sie nach KNY auf der infraanularen Seite 10 (wir haben auch 11 gezählt, vgl. Fig. 20), auf der supraanularen 8; viel zu viele kleine WZ gibt Abb. 347 bei SCHMEIL-SEYBOLD. Unsere Abbildungen zeigen 8 bei *Stenochlaena sorbifolia* (Fig. 40), 10 bei *Pteridium aquilinum* (Fig. 14), 18 bei *Microlepia speluncae* (Fig. 15), 26 bei *Matteuccia orientalis* (Fig. 31), etwa 40 bei *Cibotium Schiedei* (Fig. 10, 11). Das Sp. der letztgenannten Art gehört zu den größten, aber eine allgemeine Proportionalität zwischen der Kapselgröße und der Zahl der WZ besteht nicht; das sehr große Sp. von *Acrostichum aureum* (Fig. 16) zeigt nur 11 WZ.

Bei einigen Arten tragen die obersten WZ ein- oder zweizellige, stumpfe oder spitze Haare, auf jeder Seite eins wie bei *Leucostegia immersa* (Fig. 18; schon von P. ARBALÀEZ 1928 dargestellt) oder 2—3 bei *Phegopteris decursivepinnata* (Fig. 24), *Pessopteris (Polypodium) crassifolia* (Fig. 50). Von der letztgenannten Art hat schon SCHOTT (1834, Tafel 5) das behaarte Sp. so schön dargestellt, daß wir seine

Zeichnungen aus historischen Gründen in Abb. 4 wiedergeben; seine Beschreibung lautet „Sporangia ... vertice, juxta gyrum (1—6) cornuta". Schon FÉE bildet mehrere mit Haaren ausgestattete Sp. ab, so von *Polypodium cubense* (1854—1857, Taf. 26), *P. repandum* (1873, Taf. 29), sogar mit zweispaltigen Haaren von *Goniopteris leptocladia* und *G. hastata* (1865, Taf. 12 und 18), von *G. platypes* (1873, Taf. 33). Auch C. CHRISTENSEN zeichnet von *Dryopteris* (*Goniopteris* FÉE) *asterothrix* ein Sp. mit dreispaltigen Haaren, die aber aus dem Bogen zu entspringen scheinen (1912, S. 223); er muß wohl eine Lupe verwendet haben, nicht wie die alten Autoren das Mikroskop. Die meisten der Arten, deren Sp. von Haaren gekrönt sind, haben weder ein Indusium noch einen Haarfilz; auch sind nach unseren Erfahrungen nicht alle Sp. eines Sorus behaart, sondern nur die zu oberst stehenden.

6. Der Bogen am Ring.

Die Zahl der Bogenzellen wechselt von Gattung zu Gattung und von Art zu Art; nicht umsonst geben die Systematiker diese Zahl häufig an. Die kleinsten Sp. haben besonders wenige BZ. Die geringste Zahl, 8, teilt GOEBEL (1924, S. 127) für die Polypodiee *Xiphopteris* mit, 12 bildet er für *Pleurogramme Luetzelburgiana* ab (1930, S. 1328), 21 haben wir bei dem sehr großen Sp. von *Acrostichum aureum* (Fig. 16) gezählt, aber bei den ebenso großen Sp. von *Pessopteris crassifolia* (Fig. 49) nur 14; 20 und etwas mehr BZ sind recht häufig, mit bis über 40 BZ steht *Matteuccia orientalis* (Fig. 31) ganz isoliert.

Auf die Tatsache, daß die Zahl der BZ bei ein und derselben Art nicht konstant ist, weist bereits KÜNDIG (1888) hin. Für drei Arten gibt er folgende Schwankungen an: *Dryopteris filix mas* 14—19, *Asplenium falcinellum* 19—26, *Onoclea struthiopteris (Matteuccia str.)* 18—24. Wir bringen im folgenden die Liste einiger Arten, wobei die am häufigsten vertretene Zahl *kursiv* gedruckt ist.

Tabelle 1.

Name	Zahl der BZ	Name	Zahl der BZ
Polypodium vulgare . . .	12—*14*—15	Coniogramme japonica .	14—*17*—19
P. punctatum	*14*	Pteris cretica	17—*20*—22
P. meyenianum	*14*	Cyclophorus Winkleri . .	18—*20*—22
Drynaria rigida	13—*14*—15	Platycerium bifurcatum .	18—*20*—22
Photinopteris speciosa . .	14—*15*—16	Blechnum brasiliense . .	18—*21*—23
Dryopteris hirtipes . . .	14—*16*—19	Matteuccia struthiopteris	18—*22*—24
Hemionitis arifolia . . .	14—*15—16*	Matteuccia orientalis . .	35—*40*—45
Pityrogramma calomelanos	14—*15—16*		

Wir ersehen aus dieser Liste, daß die Zahl der BZ bei den *Polypodium*-Arten nahezu konstant 14 beträgt, während sie bei anderen Arten größeren Schwankungen unterworfen ist.

Mit der Zahl der BZ streut in gleichem Sinn die Größe der Sp., wie oben nach SCHUMANN für *Leptochilus zeylanicus* erwähnt wurde.

Die Größe der Bogenzellen geht im allgemeinen der Sporangiengröße parallel, die Wandstärke hat mit den Dimensionen des Sp. nichts zu tun. Extrem dickwandig sind die BZ von *Cyclophorus Winkleri*, Fig. 50, recht dünnwandig die von *Leptochilus heteroclitus* (ebenso bei *L. cuspidatus*)

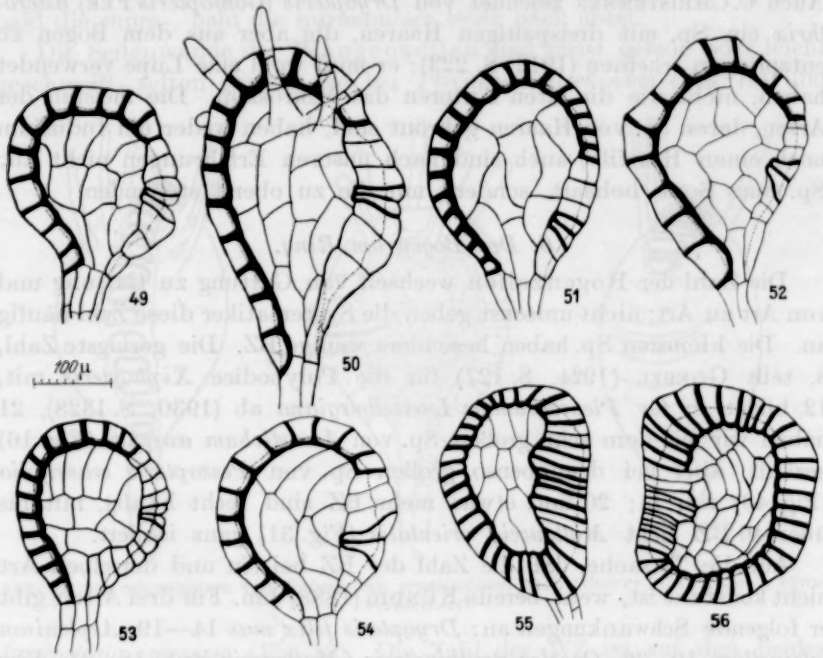

Abb. 5. Fig. 49. *Polypodium meyenianum* (SCHOTT) HOOK. — Fig. 50. *Pessopteris crassifolia* (L.) UNDERW. et MAXON. — Fig. 51. *Cyclophorus (Niphobolus) Winkleri* ROS.; COPELAND nennt die Gattung *Pyrrosia*. — Fig. 52. *Photinopteris spcciosa* (BLUME) PRESL. — Fig. 53. *Drynaria rigidula* (SW.) BEDD. — Fig. 54. *Leptochilus heteroclitus* (PR.) C. CHRIST. — Fig. 55. *Alsophila excelsa* R. BR. — Fig. 56. *Dicksonia antarctica* LAB.

(Fig. 53). Daß die Innen- und Seitenwände viel stärker sind als die Außenwände, ist ein Erfordernis der Funktion des Bogens. Ein klares, genaues Bild aller Wandstärken erhält man nur durch Schnitte, wie wir sie mit dem Gefriermikrotom hergestellt haben; das Verfahren der Einbettung in Paraffin ist nur bei jungen Sp. anwendbar. Die Längsschnitte von *Matteuccia struthiopteris* (Fig. 57) und von *Platycerium bifurcatum* (Fig. 67) zeigen, daß die Innenwand des Bogens so dick oder noch etwas dicker ist als die — von zwei Zellen gebildeten — Seitenwände und daß die Seitenwände in der Mitte so dick sind, wie man sie bei der Betrachtung ganzer Sp von der Breitseite an die Außenwand ansetzen sieht; es könnte ja auch ein starker Rahmen sein, der ein dünneres

Mittelfeld umschließt. Der Querschnitt von *Matteuccia struthiopteris* (Fig. 58) zeigt, wie die flachen WZ mit schräger Wand an die hoch-

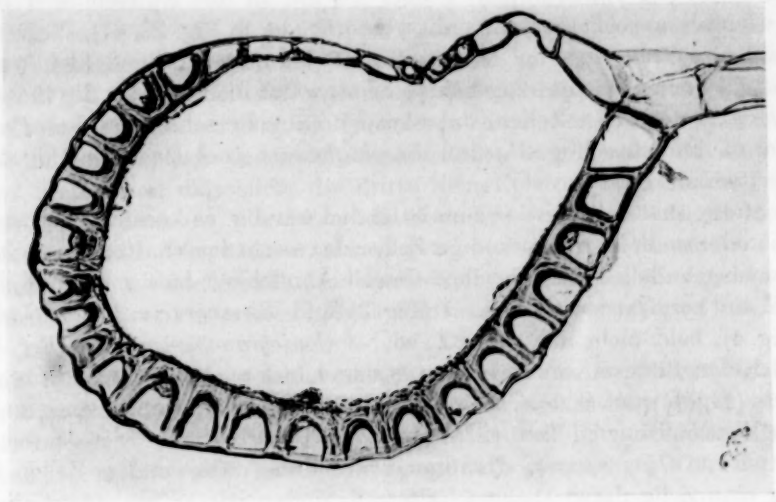

Fig. 57.

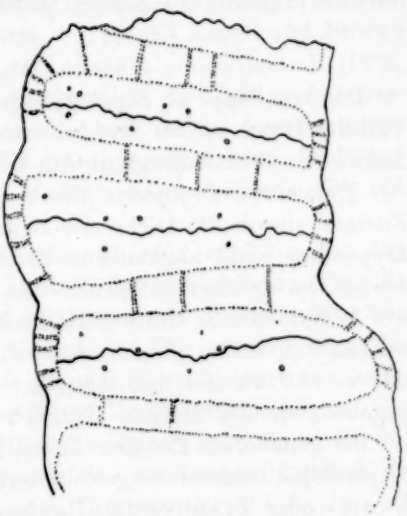

Abb. 6. Fig. 57—59. *Matteuccia struthiopteris*. Fig. 57. Längsschnitt durch das Sporangium, 3 Stomiumzellen. — Fig. 58. Querschnitt durch den Bogen. — Fig. 59. Ansicht des Bogens von innen, nach Behandlung mit Chromsäure; Tüpfel der Innenwand in Aufsicht, der Seitenwände längs.

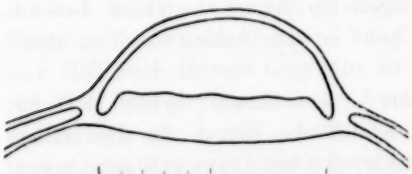

Fig. 58.

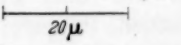

Fig. 59.

gewölbte BZ anschließen. In der Literatur sind nur ganz wenige Bilder von Schnitten durch Polypodiaceen-Sporangien zu finden; bei Bower (1928, S. 107, 217) von *Diacalpe* und von *Christopteris*. Häufiger finden sich Schnitte von *Osmunda regalis*, z. B. bei Goebel (1930, S. 1350), bei Atkinson (1894, S. 67).

Die BZ eines Rings sind nicht alle von gleicher Größe. Zumeist sind die der Stomiumregion gegenüberliegenden Zellen (C. MÜLLER nennt sie das Antistomium) größer als die an das Epistom und den Stielansatz anschließenden (s. die Schnittbilder in Fig. 57, 67). Vollends die letzte Zelle vor der Stomiumregion ist oft auffallend kleinlumig und ihre dem Epistom zugekehrte Seitenwand niedriger als die Seitenwände der übrigen Zellen, dazu manchmal sehr schräg, so bei *Polystichum falcatum* (Fig. 21) und *Elaphoglossum pachyphyllum* (Fig. 26; Herbarmaterial).

Meist ist der Bogen bis zum Stiel dickwandig, es können aber auch eine oder mehrere dünnwandige Zellen dazwischengeschaltet sein. Sind es mehrere Zellen, so zeigt ihre Gestalt Ähnlichkeit bald mehr mit den WZ, so bei *Hemionitis arifolia* (Fig. 3) und *Pityrogramma calomelanos* (Fig. 4), bald mehr mit den BZ, so bei *Coniogramme japonica* (Fig. 2). Nach den Bildern von A. LANDMANN sind hier auch *Ceropteris triangularis* (Fig. 4) und *Syngramma pinnata* (Fig. 6) zu nennen, ebenso nach der Beschreibung im Text (S. 367) noch südamerikanische wie asiatische Arten von *Gymnopteris*. Häufiger als mehrere dünnwandige Zellen ist nur eine Zelle dazwischengeschaltet; so finden wir es bei *Acrostichum aureum* (Fig. 16), *Phegopteris Robertiana* (Fig. 23).

7. Das Stomium.

Der von Sippe zu Sippe variabelste und deshalb bemerkenswerteste Teil des Rings ist das Stomium, also der verhältnismäßig starkwandige Bezirk der Stomiumregion. Am bekanntesten ist durch die Lehrbücher der Typus von *Dryopteris filix mas* geworden, bei dem zwei, im reifen Zustand durch die Dicke der Seiten- und Innenwände vom Epi- und Hypostom wohl abgehobene Stomiumzellen vorhanden sind. Selten freilich ist die Beschaffenheit des St. genau wiedergegeben; bald sind alle Wände des St. dünn gezeichnet, wie man es an den am leichtesten zu beobachtenden jungen, durchsichtigen Sp. findet — SACHS betont, daß er ein unreifes Sp. darstellt —, bald ist die Außenwand so stark gegeben wie die übrigen Wände[1].

Bei genauerem Zusehen findet man — was SCHOTT schon 1834 für *Nephrolepis exaltata* dargestellt hat! —, daß die Wand, die die beiden Saum- oder Trennzellen (beide Ausdrücke bei GOEBEL) gemeinsam haben, doppelt so dick ist wie die beiden äußeren Seitenwände; jede der beiden Zellen kleidet sich eben ringsherum mit Verdickungsschichten aus. Entsprechend sind die Verhältnisse bei mehr als 2 Stomiumzellen;

[1] Man könnte aus Lehrbüchern verschiedener Sprachen ein stattliches Register von fehlerhaften Zeichnungen zusammenstellen, auch nicht bloß was das Stonium betrifft, aber eine Dissertation ist dafür kein geeigneter Ort. Der Herausgeber RENNER.

der Längsschnitt von *Matteuccia struthiopteris* (Fig. 57) zeigt, bei 3 St.-Z, die beträchtliche Dicke der beiden inneren Seitenwände gegenüber den beiden äußeren.

Sind mehr als 2 St.-Z vorhanden, so fungieren doch immer nur zwei als Trennzellen. Regelmäßig 3 St.-Z fanden wir bei *Doodia caudata* (Fig. 37), 3 oder 2 bei *Adiantum trapeziforme*, *A. peruvianum* (Fig. 5), *Coniogramme japonica* (Fig. 2), *Microlepia speluncae* (Fig. 15). Der Riß tritt immer zwischen den zwei unteren Zellen auf, die also die Trenn- oder Saumzellen darstellen, die dritte dem Epistom zugewandte Zelle kann schon dünnere Wände haben oder sich vom Epistom gar nicht unterscheiden. Wir können also sagen, es handelt sich um ein im wesentlichen zweizelliges St., zu dem oft eine mehr oder weniger starkwandige Zelle epistomwärts hinzukommt. *Adiantum reniforme* hat fast nie mehr als 2 StZ.

2 bis 4 StZ besitzen die untersuchten Arten von *Blechnum* (Fig. 33, 34, 65); Schnarf (S. 555, Fig. 3) gibt für *B. occidentale* zwei typische StZ an, die zwischen gleich breiten, aber dünnwandigeren Zellen liegen. Nach Landmann sind hier auch *Syngramma pinnata* (S. 373, Fig. 6) und *Aspleniopsis decipiens* (S. 376, Fig. 7 mit 4 StZ) zu nennen.

Häufig sind 4 StZ mit gleichmäßig starken Wänden. Für die Vittariaceen ist das nach Goebel (1924, S. 113) die Regel, und Bower bildet solches für *Vittaria lineata* und *Anetium citrifolium* ab (1928, S. 240, 244); bei *Monogramma* ist gelegentlich die Zahl auf 3 vermindert (Goebel 1924, S. 113). Immer 4 StZ haben *Cryptogramma crispa* (Fig. 1), *Hemionitis arifolia* (Fig. 3), die untersuchten *Asplenieae* (Fig. 41—44); 4 oder sehr selten 3 *Matteuccia struthiopteris* (Fig. 30, s. auch Fig. 57).

Meist 4, aber auch bis zu 7 StZ haben *Onoclea sensibilis* (Fig. 32), 4—7 auch *Pellaea rotundifolia* (Fig. 7), 4—8 *Lonchitis hirsuta* (Fig. 12), 5—7 *Acrostichum aureum* (Fig. 16), 5—8 *Matteuccia orientalis* (Fig. 31), nach A. Landmann auch *Ceropteris triangularis* (Fig. 4). Die Lage der Trennzellen innerhalb eines vielgliedrigen St. ist nicht konstant, wenn der Riß auch immer ungefähr in der Mitte der Zellgruppe liegt.

Was das phylogenetische Verhältnis der Typen betrifft, so ist das vielzellige, oft wenig scharf abgegrenzte St. wohl ursprünglicher als das zweizellige mit seiner ganz strengen Begrenzung.

Das St. hat selten die gleiche horizontale Erstreckung wie der Bogen; so bei Arten mit zahlreichen StZ wie *Lonchitis hirsuta* (Fig. 12), *Matteuccia orientalis* (Fig. 31). Meist greifen die StZ mehr oder weniger breit auf die Wangen hinüber. Sehr breit sind sie z. B. bei *Blechnum spicant* (Fig. 35, 36, 65), *Pessopteris crassifolia* (Fig. 50), *Platycerium bifurcatum* (Fig. 66), auffallend schmal bei *Diplazium Shepherdi* (Fig 64). Besonders wo nur 2 StZ vorhanden sind, erscheinen diese fast immer

in der Weise geschweift, daß sie sich in der Mitte weit gegen das Epi- und Hypostomium vordrängen, an den Enden sich zusammenziehen; in extremem Maß zeigt dies z. B. *Leptochilus heteroclitus* (Fig. 54). Die „Lippen" des „Mundes" — ATKINSON spricht von lip cells, S. 60 — sind hier breit und dick, sie sind schmal aber dick bei *Diplazium Shepherdi* (Fig. 64), breit aber dünn bei *Blechnum spicant* (Abb. 35 36, 65) und bei *Platycerium* (Fig. 66).

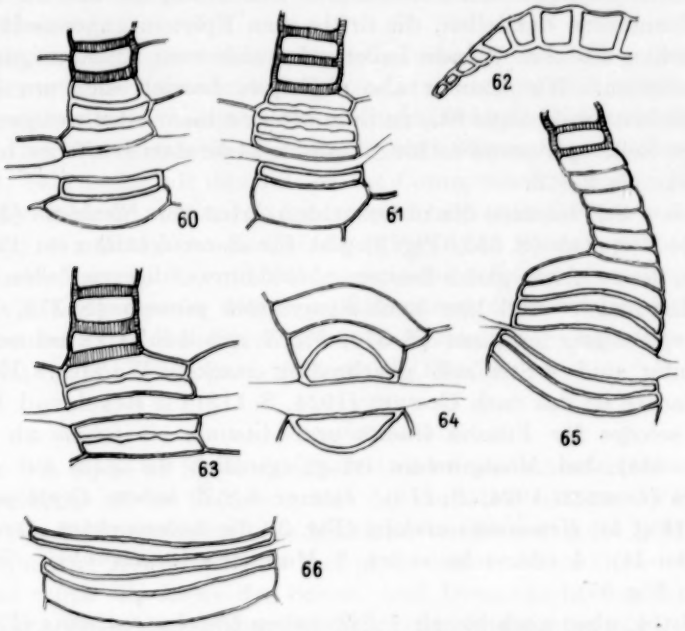

Abb. 7. Fig. 60—66. *Asplenium trichomanes* L. Fig. 60. Aufgerissenes Stomium in Aufsicht, zwischen Bogen (schraffiert) und Saumzelle 2 dickwandige Stomiumzellen. — Fig. 61. 3 solche Zellen. — Fig. 62. Optischer Schnitt, mit im ganzen 4 Stomiumzellen bis zum Riß. — Fig. 63. *Asplenium septentrionale* HOFFM., zwischen Bogen und Saumzelle nur eine einzige Übergangszelle. — Fig. 64. Aufgerissenes Stomium von *Diplazium Shepherdii* LINK. — Fig. 65. Ebenso von *Blechnum spicant*, unter dem Riß 2 Stomiumzellen, über dem Riß 3 Stomiumzellen und 7 Epistomzellen. — Fig. 66. *Platycerium bifurcatum*, geöffnetes Stomium, Saumzellen sehr breit, aber dünn. Gezeichnet von O. RENNER.

Die Zellbreite nimmt vom Bogen zum St. meist allmählich, mitunter sprunghaft zu, und beide Modi können bei ein und derselben Art vorkommen, z. B. bei *Blechnum spicant* (Fig. 65). Ebenso nimmt die Zellbreite vom St. zum Stiel schrittweise ab, wenn mehrere Hypostomzellen vorkommen.

Die Tiefe der StZ ist immer viel geringer als die der BZ, und das gleiche gilt für die Zellen des Epi- und Hypostomium. Schon SACHS kombiniert das Aufsichtsbild mit dem optischen Längsschnitt, und wir haben diese Verhältnisse überall etwas schematisch dargestellt.

Die Wanddicke der Saum- wie der übrigen Stomiumzellen erreicht wohl nie die der Bogenzellen, ist aber bei allen Arten größer als die der Epi- und Hypostomiumzellen; als typische StZ haben wir die starkwandigen Elemente der St.-Gruppe definiert. Besonders dickwandige StZ finden wir bei *Cryptogramma crispa* (Fig. 1), *Hemionitis arifolia* (Fig. 3), *Adiantum peruvianum* (Fig. 5), *Doryopteris ludens* (Fig. 6), *Cibotium glaucum* (Fig. 9); die Arten mit zwei, ebenso die meisten mit mehr als vier haben verhältnismäßig schwachwandige St.-Zellen.

Die Zahl der dünnwandigen Epistomzellen variiert wenig, sie ist allermeist 3—4. Eine einzige Epistomzelle wurde gefunden bei *Didymochlaena truncatula* (Fig. 22), dagegen bis 8 bei *Blechnum spicant* (Fig. 35, 36, 65). Ein typisches Epistom fehlt, wie genauer zu beschreiben sein wird, bei den Asplenieen.

Die Zahl der dünnwandigen Hypostomzellen ist allermeist 3—4, 2 sind beobachtet bei *Platycerium*, bei *Polypodium punctatum* (Fig. 48), wo deswegen das St. ganz nahe an den Stiel heranrückt, 4 bei *Coniogramme japonica* (Fig. 2), *Pityrogramma calomelanos* (Fig. 4), *Pteris cretica* (Fig. 13), 5 bei *Fadyenia Fadyenii* (Fig. 25), 5—10 bei *Blechnum*.

Die Zahl der Epi- und Hypostomzellen ist besonders variabel bei Formen, deren Stomiumregion wie bei *Blechnum* aus zahlreichen Zellen besteht. Bei Arten mit 2 StZ, so bei den meisten Aspidieen und Davallieen, ist die Zahl ziemlich konstant, nämlich je 3 Epi- und Hypostomzellen.

Anomale Stomiumtypen.

a) Asplenieae. Eine der frühesten genauen Zeichnungen des Polypodiaceensporangiums, die von SCHLEIDEN, stellt wie erwähnt einen anomalen Typus dar, insofern als der Bogen unmittelbar an das St. grenzt, nicht durch ein dünnwandiges Epistom davon getrennt ist. SCHLEIDEN nennt seine Pflanze *Scolopendrium officinarum*; wahrscheinlich hat er *Ceterach officinarum*, nicht *Scelopendrium vulgare* vor sich gehabt. Wie später SCHNARF ermittelt hat, ist diese Eigenschaft den Asplenieen gemeinsam; das Bild, das er in Fig. 4 von *Asplenium viviparum* gibt, zeigt das St. in der Zellbreite nicht so deutlich vom Ring abgesetzt wie bei SCHLEIDEN. Die beiden Bilder C. MÜLLERS von *Asplenium trichomanes* vollends, die bei SADEBECK und bei BOWER (z. B. 1935, S. 414) reproduziert sind, geben eine ganz unzutreffende Vorstellung: auf dem linken Bild sieht es so aus, als ob die StZ sich in keiner Weise von den BZ unterscheiden würden und schmal auf ein breites zweizelliges Hypostom aufstießen; die rechte Figur stimmt mit der linken nicht überein und ist in den Einzelheiten nicht recht zu verstehen. In Wirklichkeit liegt, wie wir bei *A. trichomanes* L., *ruta muraria* L., *septentrionale* HOFFM. beobachtet haben, zwischen der

letzten BZ und der oberen Trennzelle mindestens eine Zelle (Fig. 63) von so geringer Tiefe, wie sie für die Stomiumregion charakteristisch ist (Fig. 63), und häufig sind es zwei (Fig. 60) oder drei (Fig. 61, 63) solche Zellen. Ihre Seitenwände sind fast so stark wie die der letzten BZ, aber heller bräunlich gefärbt und ungleichmäßig dick. Auf die Trennzellen stößt also der Bogen nicht auf, aber ebenso fraglos fehlt ein typisches dünnwandiges Epistomium; der Bogen geht in das Stomium über, wenn wir darunter die Gruppe starkwandiger niedriger Zellen verstehen. Wenn GOEBEL (1924, S. 107) schreibt, ihm sei „kein Polypodiaceensporangium bekannt, das nicht ein St. mit Epi- und Hypostomium besitzt", so war ihm damals die Arbeit SCHNARFs nicht bekannt; später (1930, S. 1328) weist er auf die Besonderheit der *Asplenieae* hin, denen ein Epistom nach der Schilderung SCHNARFs fehle. Ein gutes Bild von *Scolopendrium* ist bei STRASBURGER (1887, S. 455, Fig. 156; 1923, S. 554, Fig. 217c) zu finden. Bei unseren etwas schematisierenden Abbildungen von *Asplenium*, *Ceterach*, *Scolopendrium* (Fig. 41—44) erscheinen die StZ den BZ ähnlicher, als sie dies in Wirklichkeit sind; besser geben den Eindruck die Fig. 60—62 wieder.

b) Polypodieae. Auf eine viel zu wenig beachtete Besonderheit der Stomiumregion, die bei *Polypodium* und verwandten Gattungen vorkommt, hat als erster GOEBEL hingewiesen. Er berichtet (1924, S. 121; dazu Fig. 10, S. 118) von *Pleurogramme seminuda*, daß hier 2 StZ vorliegen, „auf die eine Einsackung zuführt". Von *Pl. Luetzelburgiana* sagt er (1929, S. 23): „Das St. zeigt die am angegebenen Ort auch für *Pl. seminuda* hervorgehobene Eigentümlichkeit, daß seine beiden Zellen schon von vornherein einen tiefen „Vorhof" aufweisen, so daß nur noch ein kleines Wandstück beim Auseinanderweichen der StZ gespalten zu werden braucht (Fig. 13)". In dieser — nicht von GOEBEL selbst gezeichneten — Figur fehlt nun dieses Wandstück, das auch nicht leicht zu sehen ist, ganz, während die sehr kleine Zeichnung von 1924 (Fig. 10) es andeutet; auch die Wanddicke der BZ scheint uns übertrieben. Ähnlich ist nach GOEBEL (1924, S. 127) das St. auch bei einer *Xiphopteris*-Art beschaffen; eine sichtbare Einsenkung findet er (1924, S. 212) auch bei *Enterosorus Campbelli*. In der Organographie (S. 1328) ist die Figur von *Pleurogramme Luetzelburgiana* reproduziert, ohne daß auf das sonderbare St. hinzuweisen Veranlassung gegeben wäre. Ein völlig klares Bild von der Ausdehnung der Trennwand gibt nur ein Längsschnitt, wie wir ihn von *Platycerium bifurcatum* (Fig. 67; vgl. dazu Fig. 46) darstellen. Bei *Platycerium* ist die Anomalie des St. besonders ausgeprägt, aber GOEBEL (l. c. S. 1129) macht nicht darauf aufmerksam. BOWER deutet für *Plat. aethiopicum* etwas davon an (1928, S. 212, Fig. 721), und noch entschiedener in der Zeichnung des Schnittes von *Christopteris tricuspis* (1928, Fig. 726; die Außenwand der StZ ist hier

wohl zu Unrecht so dick gezeichnet wie die Innenwand), aber er nennt das Sp. „an ordinary Leptosporangiate type". Zu den über die niedrige

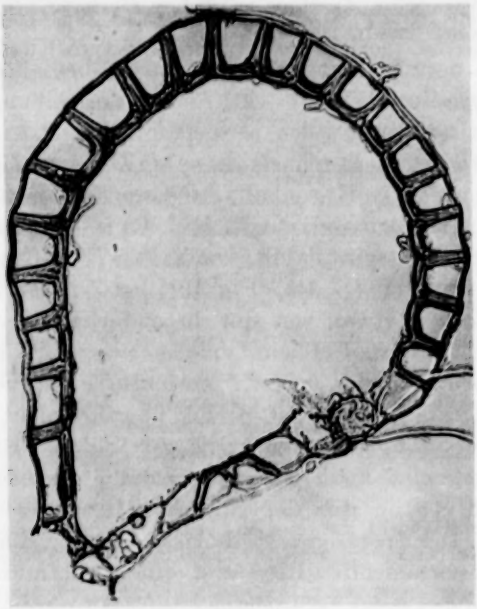

Fig. 67.

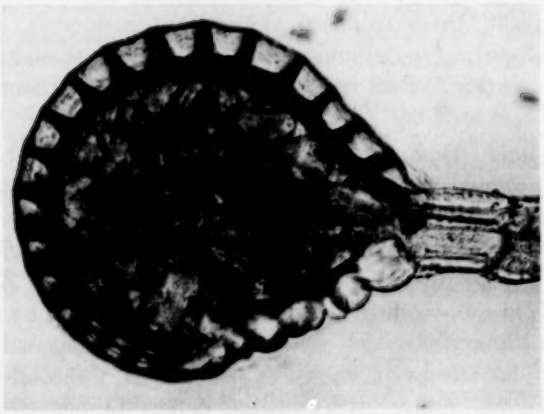

Fig. 68.

Abb. 8. Fig. 67 u. 68. *Platycerium bifurcatum*. Fig. 67. Längsschnitt durch das Sporangium, Saumzellen nahe dem Stiel, Epistom zerrissen. — Fig. 68. Sporangium im Wasser liegend, Saumzellen prall, kleiner als die hyalinen Zellen des Epistoms und des Hypostoms.

Trennwand hochgewölbten Außenwänden gehören auch ungewöhnlich tiefe Epi- und Hypostomiumzellen mit konvexen Außenwänden und hyalinem Inhalt (Fig. 68), von denen später zu reden sein wird.

90 Jahre vor GOEBEL, 1834, hat H. SCHOTT das eigentümliche Stomium einiger Polypodieen: *Aglaomorpha Meyeniana (Polypodium Meyenianum), Anaxetum (Polypod.) crassifolium, Cochlidium graminoides,* in trefflichen Zeichnungen, die den Unterschied gegenüber *Aspidium trifoliatum, Cystopteris fragilis, Nephrolepis exaltata* klar erkennen lassen, wiedergegeben.

Wir fanden den besonderen Stomiumtyp bei allen untersuchten Arten von *Polypodium* (Fig. 47—50) — die Vorwölbung der Epi- und Hypostomzellen ist verschieden ausgeprägt, bei *P. leiorhizum* WALL. mäßig, bei *P. phymatodes* L. sehr stark —, bei *Drynaria rigidula* (Fig. 53), bei *Leptochilus axillaris* KLF., bei *Selliguea Feei* BORY (*Polypodium vulcanicum* BL.; Herbarmaterial von Prof. RENNER vom Vulkan Batur auf Bali); A. LANDMANN gibt das St. von *S. Feei* (Fig. 9) ganz schematisch wieder. Bei CAMPBELL (S. 344, Fig. 191) ist in der Zeichnung von *Polypodium falcatum* etwas von der Besonderheit des St. zu spüren, aber sie fällt nicht auf, weil er kein typisches Sp. zum Vergleich abbildet, und die Trennzellen sind verzerrt. Auch die Figur von *Polypodium Schwackei* bei CHRIST (1908, Taf. 6, Fig. 6) zeigt nicht das Charakteristische der Gattung. Wie wenig die geschilderte Eigentümlichkeit beachtet wurde, zeigt auch die Monographie der Platycerien von v. STRASZEWSKY (1915), der die Sp. dieser Gattung mit dem Satz charakterisiert: „Die Sporangien sind typische Polypodiaceensporangien mit einem längs verlaufenden Ring und öffnen sich mittels einer Querspalte".

c) Dipteris. Bei *Dipteris conjugata* (Fig. 45) ist die Stomiumregion vom Bogen nicht durch dünnere Wände unterschieden, sie hebt sich lediglich durch geringere Zellumina ab; ähnlich verhält sich eine kleinere *Dipteris*, die von Prof. RENNER bei Fort de Kock auf Sumatra gesammelt wurde.

d) Plagiogyria. Besonders weit weicht von den bisher beschriebenen Formen *Plagiogyria* durch den über dem Stiel geschlossenen Ring ab. Bei *Pl. euphlebia* (Fig. 8) haben wir eine Stomiumregion vor uns, bei der wir keine Trennzellen mit stärkeren Wänden unterscheiden können; da aber die Öffnung des Sp. immer zwischen bestimmten Zellen erfolgt, scheinen auch hier besondere Zellen vorgesehen zu sein, zwischen denen die Mittellamelle spaltbar ist. Nach einer Abbildung bei METTENIUS (1858, Taf. 15) hat dieses St. auch *Pl. semicordata*, während nach BOWER (1910) *Pl. biserrata* einige dickwandige Zellen in der Stomiumregion besitzt.

In der Gestalt des Ringes ist von *Plagiogyria* der Weg nicht weit zu den Cyatheaceen wie *Alsophila excelsa* (Fig. 55) und den Dicksoniaceen wie *D. antarctica* (Fig. 56). Das vielzellige St. ist hier auf beiden Seiten vom Bogen durch meist je zwei dünnwandige Zellen abgehoben. Ein deutlicher Unterschied zwischen *Alsophila excelsa* und *Dicksonia*

antarctica ist im Bau des Ringes kaum zu finden. SCHNARF, der viel mehr Arten untersucht hat, findet bei den Dicksonieen stets eine durch unverdickte Zellen deutlich abgegrenzte Stomialregion (S. 569); bei den Cyatheen sollen die StZ in den meisten Fällen, nicht immer, allmählich in die eigentlichen Ringzellen übergehen; die „eigentlichen Ringzellen" sind unsere BZ.

8. Der Stiel des Sporangiums.

Der Stiel des Sp. zeigt bei unseren Formen am Kapselansatz fast immer drei Zellen nebeneinander; im unteren Teil sind es gewöhnlich zwei, bei *Asplenium* und den Davallieen nur eine. Vgl. dazu die Übersicht bei BOWER (1935, S. 416, Fig. 353), die auch andere Formen als Polypodiaceen berücksichtigt.

9. Die Bedeutung des Wandbaues der Sporangien für die Systematik.

Wir haben bereits im vorigen Kapitel ausgeführt, daß dem Sporangienwandbau bisher auch von seiten der Systematiker geringe Beachtung geschenkt wurde. Dieses Kapitel soll klären, wieweit der Wandbau für die Systematik verwertbar ist; außerdem wollen wir untersuchen, ob die bisherige systematische Einordnung mit unseren Ergebnissen übereinstimmt. Da wir bei unseren Untersuchungen im großen und ganzen nur die Arten berücksichtigen, die der Münchener Botanische Garten lebend besitzt, kann das folgende keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit erheben und soll lediglich einer künftigen systematischen Bearbeitung als Anregung dienen.

a) Die Pteridaceen. Nach der Einteilung bei COPELAND entsprechen diesen bei DIELS die Tribus der *Pterideae* und der *Dicksonieae*; erstere zerfällt in die Subtribus: *Gymnogramminae, Cheilanthinae, Adiantinae* und *Pteridinae*. Auch bei BOWER (1928) entspricht den Pteridaceen COPELANDS keine Einheit; er unterscheidet vielmehr die „Gymnogrammoid Ferns" und die „Pteroid Ferns" — beide Gruppen zusammen würden den *Pterideae* bei DIELS entsprechen — und die Dicksoniaceen, die im Gegensatz zu DIELS keine Verbindung zu den Cyatheaceen haben und deshalb als eigene Familie behandelt werden. Nach BOWER leiten sich die „Gymnogrammoid Ferns" vom *Plagiogyria* ab, während die „Pteroid Ferns" mit den Dicksoniaceen in Verbindung stehen.

Sehen wir zunächst von den Gattungen der *Dicksonieae* ab, so können wir bei den Sporangien der Pteridaceen zwei Gruppen unterscheiden, die mit der Einteilung bei BOWER in „Gymnogrammoid Ferns" und „Pteroid Ferns" übereinstimmen. Betrachten wir erstere, die die ersten drei Subtribus der *Pterideae* (nach DIELS) umschließt und die BOWER in ähnlicher Weise unterteilt hat, so sehen wir, daß sich auch im Sporangienbau nochmals solche Unterteilungen treffen lassen. Wir bringen nun die Unterteilung BOWERS und setzen die von uns untersuchten Gattungen in Klammern dahinter: I. The Primitive Gymnogrammoids *(Cryptogramma)*; II. The central group of Gymnogrammoids *(Coniogramme, Hemionitis, Ceropteris)*; III. The Adiantoid Ferns *(Adiantum)*; IV. Cheilanthoid Ferns *(Pellaea, Doryopteris)*.

Bei *Cryptogramma crispa* (Fig. 1) zieht sich der Ring um das ganze Sp.; die BZ werden vor dem Ansatz des Stiels dünnwandig; die StZ sind derbwandig und erstrecken sich weit in die WZ. Wie bei dieser Art sind auch bei den Angehörigen der II. Untergruppe zwischen Stielansatz und BZ einige (meist zwei) dünnwandige Zellen dazwischengeschaltet, während im Gegensatz dazu der Ring nicht mehr

geschlossen ist; wir sehen dies bei *Coniogramme japonica* (Fig. 2), *Hemionitis arifolia* (Fig. 3), *Pityrogramma calomelanos* (Fig. 4). Da auch A. LANDMANN die Eigentümlichkeit des Ringes bei mehreren *Gymnopteris*-Arten, bei *Syngramma pinnata*, bei *Ceropteris triangularis* beschreibt bzw. abbildet, handelt es sich hier um ein bei dieser Untergruppe weiter verbreitetes Merkmal.

Bei der Gattung *Adiantum*, der einzigen, die der III. Untergruppe angehört, erstrecken sich die BZ bis zum Stielansatz; lediglich durch die Derbwandigkeit und die große horizontale Erstreckung der StZ besteht bei *Adiantum peruvianum* (Fig. 5) einige Ähnlichkeit mit *Cryptogramma crispa*.

Auch bei den untersuchten Gattungen der IV. Untergruppe erstrecken sich die BZ bis zum Stielansatz. Lediglich bei *Doryopteris ludens* (Fig. 6) zeigen die StZ Ähnlichkeit mit *Cryptogramma crispa*, während dies bei *Pellaea rotundifolia* (Fig. 7) nicht der Fall ist. Da gerade diese Untergruppe artenreich ist, können wir es uns nicht erlauben, auf Grund unserer Untersuchungen von nur 2 Arten Schlüsse auf ihre Verwandtschaftsverhältnisse zu ziehen, die bei dieser Untergruppe besonders verwickelt liegen.

Der Ansicht von COPELAND, daß *Plagiogyria* (s. Fig. 8) recht isoliert steht, können wir beipflichten; die Auffassung von DIELS und von BOWER, die *Plagiogyria* zu *Gymnogramme* in Beziehung bringen, halten wir auf Grund des Sporangienbaues für unwahrscheinlich. Hinweisen wollen wir auch auf eine große Ähnlichkeit zwischen *Cibotium glaucum* (Fig. 9) und *Cryptogramma crispa* (Fig. 1), die allerdings andere Arten von *Cibotium*, wie *C. Schiedei* (Fig. 10 und 11), nach BOWER (1926, S. 144) *C. Menziesii*, nach ATKINSON (1899, S. 61) *C. Chamissoi*, nicht zeigen.

Die anderen Gattungen der Pteridaceen mit *Pteris* als zentraler Gattung, die wir untersuchten, sind: *Lonchitis*, *Pteris*, *Pteridium*, *Acrostichum*, *Microlepia*. Wie bei den vorhergehend behandelten Gattungen der Pteridaceen, so ist auch hier der Sporangienbau von großer Mannigfaltigkeit; obwohl aber große Unterschiede in der Größe und im Wandbau auftreten, ist allen gemeinsam, daß die Zellen, mit denen der Stiel an der Kapsel ansetzt, von mehr oder weniger gedrungener Gestalt sind. Dies sehen wir sowohl bei dem Sp. von *Lonchitis hirsuta* (Fig. 12), das groß ist und 5—8 StZ mit einem vielzelligen Epi- und Hypostom besitzt, als auch bei dem viel kleineren Sp. von *Pteris cretica* (Fig. 13) mit 2 StZ. Große Ähnlichkeit mit den *Pteris*-Arten weist *Pteridium aquilinum* (Fig. 14) auf, nur daß hier die Stielansatzzellen länger gestreckt sind. Der Meinung von COPELAND, daß *Lonchitis* eine Untergattung von *Pteris* ist, und ebenso der von BOWER (1928), daß *Lonchitis* das Bindeglied zwischen *Pteris* und *Pteridium* darstellt, können wir wegen der Sporangiengestalt dieser drei oben erwähnten Arten nicht beipflichten; wobei wir allerdings nicht bezweifeln, daß *Lonchitis* zur näheren Verwandtschaft von *Pteris* gehört.

Nach dem Stielbau gehört hierher auch *Microlepia speluncae* (Fig. 15), die DIELS und BOWER noch bei den Davalliaceen unterbringen, während sie von ARBALÀEZ auf Grund seiner sorgfältigen Untersuchungen über die Davalliaceen aus dieser Familie ausgeschlossen und bei COPELAND bei den Pteridaceen behandelt wird.

Für *Acrostichum*, *Elaphoglossum*, *Platycerium* und einige andere bildet DIELS nach der Anordnung der Sp. in großen Flächen die Tribus der Acrosticheen. Frau SCHUMANN (1915) vertritt die Meinung, daß sich *Acrostichum aureum* mit *Pteris* in Verbindung bringen läßt, und BOWER (1928) stellt es zu den „Pteroid Ferns", ebenso finden wir es bei COPELAND unter den Pteridaceen. Das von uns untersuchte, außerordentlich große Sp. (Fig. 16) weist die gedrungenen Stielansatzzellen auf, und zeigt auch sonst einige Ähnlichkeit vor allem mit *Lonchitis*; ziemlich isoliert, wie SCHUMANN meint, dürfte die monotypische Gattung doch stehen.

b) Die Davalliaceen. Die Davalliaceen haben alle recht ähnliche Sp.; so besitzen sie alle 2 StZ mit leicht verdickten Wänden und meist je 3 Epi- und Hypostomzellen. Weiterhin ist auch der lange Sporangienstiel typisch, der unten meist aus einer und erst am Stielansatz aus 3 Zellreihen besteht.

Da bereits ARBAL EZ die Angehörigen dieser Familie sorgfältig untersucht hat, brauchen wir nicht näher auf sie einzugehen und zeigen lediglich der Vollständigkeit halber Bilder von *Davallia dissecta* (Fig. 17), *Leucostegia immersa* (Fig. 18), *Nephrolepis exaltata* (Fig. 19). Die Stellung der letzten Gattung hält COPELAND nicht für gesichert, da er S. 91 schreibt: „The proper systematic position of *Nephrolepis* is not established. It has been associated with Dicksonioid, Davallioid and Aspidioid ferns." Da aber die Sp. von *N. exaltata* denen der anderen Davalliaceen außerordentlich ähnlich sind, zweifeln wir nicht an der Zugehörigkeit zu dieser Familie.

c) Die Aspidiaceen. Den Aspidiaceen von COPELAND entsprechen bei DIELS die Tribus der *Aspidieae* und der *Woodsieae*; letztere gliedern sich in die Subtribus *Woodsiinae* und *Onocleinae*. Bei BOWER (1928) entsprechen dieser Familie die „Dryopteroid Ferns" mit den Untergruppen *Aspidieae* und *Woodsieae*, sowie die Gruppe der „Onocleoid Ferns", die lediglich aus den Genera *Onoclea* und *Matteuccia (Struthiopteris)* besteht.

Die meist rundlichen Sp der Aspidiaceen im Sinne COPELANDS sind, mit Ausnahme derer der Gattungen *Onoclea* und *Matteuccia*, auf die wir später zu sprechen kommen, alle im Wandbau sehr ähnlich. Die Stomiumregion besteht regelmäßig aus 2 StZ und oftmals je 3 Epi- und Hypostomzellen. Die Gattungen, deren Sp. wir untersucht haben, sind: *Dryopteris, Polystichum, Didymochlaena, Phegopteris, Fadyenia* (s. dazu die Fig. 20—25).

Auf Grund des ähnlichen Baues aller dieser Sp. lassen sich einige Gattungen, deren Stellung im System bisher nicht völlig geklärt war, bei den Aspidiaceen einordnen; es sind dies *Elaphoglossum, Athyrium, Diplazium, Cystopteris.*

Elaphoglossum wurde von METTENIUS (1856), CHRIST (1897), DIELS (vgl. oben S. 390) zu den Acrosticheen gestellt. BOWER (1918), der die Acrosticheen als erster auflöst, behandelt *Elaphoglossum* zusammen mit *Syngramma* — die nach COPELAND zu den Pteridaceen gehört — bei den „Metaxyoid Ferns", während wir es bei COPELAND bei den Aspidiaceen finden. Da die Sp. von *E. pachyphyllum* (aus dem Staatsherbar München; Abb. 26) und *E. crinitum* CHRIST (Herbarmaterial aus Jena) denen der typischen Aspidiaceen ähnlich sind, gehört die Gattung sicherlich zu dieser Familie.

Athyrium und *Diplazium* wurden sowohl von DIELS als auch von BOWER (1928) in die Nähe von *Asplenium* gestellt, während sie COPELAND bei den Aspidiaceen einreiht. Daß die beiden Gattungen in der Gestaltung des St. sich von den Aspleniaceen tief unterscheiden, hat zuerst SCHNARF (S. 558) betont. Wir können genauer sagen: das St. von *Athyrium filix femina* (Fig. 27) wie das von *Diplazium proliferum* (Fig. 28) und ebenso von *D. Shepherdii* LINK (Fig. 64) gleichen durchaus dem der Aspidiaceen, und beide Gattungen sind dieser Familie zuzuteilen. Diese Einreihung wird auch durch die Untersuchungen MANTONS (1950, S. 108) bekräftigt, die wegen der Chromosomenzahlen eine nähere Verwandtschaft von *Athyrium* zu *Cystopteris* als zu *Asplenium* für wahrscheinlich hält, während z. B. MAIRE noch 1952 (S. 62) *Athyrium f. femina* zu den *Asplenieae* stellt.

Die Gattung *Cystopteris* wurde von DIELS in die Nähe von *Woodsia* gestellt und von BOWER (1928) bei den „genera incertae sedis" behandelt; er schreibt allerdings, daß die Gattung in die Nähe der „Dryopteroid Ferns" gehört. COPELAND bringt sie bei den Aspidiaceen unter. Tatsächlich schließt sich *C. fragilis* (Fig. 29) im Bau des Sp. durchaus an die Aspidiaceen an. — Über *Leptochilus* vgl. unten S. 393.

Wie oben angedeutet, unterscheiden sich die Sp. von *Matteuccia* und *Onoclea* von denen der übrigen Aspidiaceen. *Matt. struthiopteris* (Fig. 30) hat 3 oder 4 StZ

(Fig. 57), die Zahl der BZ ist zwischen 20 und 25. Von dieser Art unterscheidet sich *Matteuccia orientalis* (Fig. 31) mit bis zu 45 BZ, bis zu 8 StZ und zahlreichen Epi- und Hypostomzellen beträchtlich. Auch die Beschaffenheit der Wangen ist bei den beiden Arten verschieden. Ähnlich der letzten Art ist nach BOWER (1928, S. 157) *Struthiopteris intermedia*; BOWER stellt das Sp. mit über 40 BZ, aber ohne differenziertes St. dar, wir finden an Herbarmaterial eine wohldefinierte Gruppe von Stomiumzellen. COPELAND (S. 103) gibt sogar für die Gattung an, das St. sei „ill developed", aber wir können dem nicht beipflichten.

Onoclea sensibilis (Fig. 37) ähnelt *Matteuccia struthiopteris*, hat aber nicht immer nur 4 StZ, wie hier gezeichnet ist, sondern kann bis 7 haben. Ob *Matt. struth.* mit den anderen Arten in einer Gattung belassen werden kann, erscheint bei den tiefen Verschiedenheiten der von uns untersuchten Sp. recht zweifelhaft. Die Ähnlichkeit der Sporophylle könnte ja wohl auf Konvergenz beruhen, während eine so tiefe Differenzierung der Sp. innerhalb einer Gattung weniger Wahrscheinlichkeit hat.

d) Die Blechnaceen. Die Familie besteht aus wenigen Gattungen, die uns nicht alle zur Verfügung standen. Bei den vier untersuchten Genera sind die Sp. recht verschieden.

Bereits früher (S. 384) haben wir auf die Eigentümlichkeit der StZ von *Blechnum* hingewiesen, wir brauchen daher die Fig. 33—36 nicht näher zu erörtern. *Woodwardia* und *Doodia* wurden wegen einer großen Ähnlichkeit in der Anlage ihrer Sori und ihrer Indusien sowohl von DIELS als auch von BOWER (1928) als nahe Verwandte behandelt. COPELAND vertritt hingegen die Ansicht, daß sich *Woodwardia* am unabhängigsten von *Blechnum* entwickelt hat, während *Doodia* nahe Beziehungen zu *Blechnum* aufweist. Die Sp. von *Doodia caudata* (Fig. 37) und *Woodwardia radicans* (Fig. 38) sind einander wenig ähnlich; eine Ähnlichkeit mit *Blechnum* besteht nur bei der letztgenannten Art, da die StZ auch hier verschieden stark verdickte Wände haben, ebenso erinnert die Beschaffenheit der Wangen an *Blechnum*. Auffallend ist die unterschiedliche Größe der Sp. bei *Stenochlaena*; der Bau der Stomiumregion ist dem der Aspidiaceen sehr ähnlich (Fig. 39 und 40). BOWER (1928, S. 179) stellt *Struthiopteris intermedia* und *Stenochlaena sorbifolia* auf einer gemeinsamen Abbildung dar und weist dabei auf die Ähnlichkeit dieser beiden Sp. hin; wir können eine solche nicht finden, da die beiden Formen im Bau des Ringes recht verschieden sind.

e) Die Aspleniaceen. Die gleiche Eigentümlichkeit des Ringes wie bei *Asplenium nidus* (Fig. 41), *A. ruta muraria* L., *A. trichomanes* (Fig. 60—62), *A. septentrionale* HOFFM. (Fig. 63) — eine große Zahl von *Asplenium*-Arten hat auch SCHNARF untersucht und alle übereinstimmend gefunden — und *Ceterach officinarum* (Fig. 42) zeigen *Scolopendrium vulgare* (Fig. 43, 44) und *Camptosorus rhizophyllus* LINK, die beide von BOWER (1928) zu den „Blechnoid Ferns" gestellt werden, aber wegen ihres Sporangienbaues zu den Aspleniaceen gehören, zu denen sie auch COPELAND stellt. Ebenso hält auch MANTON (1950, S. 124) auf Grund der Chromosomenzahlen eine nähere Verwandtschaft von *Scolopendrium* zu *Asplenium* als zu *Blechnum* für wahrscheinlich.

f) Die Polypodiaceen (*s. str.*). BOWER (1915, 1928) wie COPELAND leiten die typischen Polypodiaceen wegen des als ursprünglich erachteten Mangels eines Indusiums und aus anderen Gründen von *Dipteris* und *Cheiropleuria* ab. Daß die Sp. recht verschieden gebaut sind, ist ihnen bekannt. Wir haben uns auf die phyletische Bewertung der einzelnen Charaktere nicht einzulassen, sondern nur auf Übereinstimmung und Unterschiede im Sporangienbau hinzuweisen.

Cheiropleuria bicuspis besitzt nach BOWER (1928, S. 207) einen geschlossenen Ring. Eigene Untersuchungen an allerdings ungünstigem Herbarmaterial hat uns

gelehrt, daß dieser Ring eine wohldefinierte Gruppe starkwandiger StZ, meist 4 an der Zahl, enthält. Bei den typischen Polypodiaceen ist der Ring durch den Stielansatz unterbrochen, aber es ist ja zur Zeit geltende Meinung, daß der Übergang vom vollständigen zum unvollständigen Ring sich mehrmals vollzogen hat. *Dipteris* (Fig. 45) hat noch keine deutliche Scheidung von Bogen und Stomiumregion — COPELAND (S. 177) nennt das St. „ill developed" — und stellt in dieser Hinsicht wohl einen primitiven Typus dar. Beide Gattungen unterscheiden sich also tief von den typischen Polypodiaceen.

Von diesen typischen Polypodiaceen haben wir in der Anordnung von COPELAND Vertreter der Gattungen *Platycerium (bifurcatum*, Fig. 46, *angolense*), *Polypodium* (*vulgare*; Fig. 47); außerdem folgende bei COPELAND nicht aufgeführte, im Botanischen Garten München als *Polypodium* bezeichnete Arten: *P. glaucum* KZE., *P. lepidopteris* KZE, *P. meyenianum* (Fig. 49), *P. punctatum* (Fig. 48), *P. squamulosum* KLF.; weiter *Pessopteris* (*crassifolia*; Fig. 50), *Phlebodium* (*aureum* J. SM.), *Pyrrosia* = *Cyclophorus* = *Niphobolus* (*Winkleri*; Fig. 51), *Microsorium* (*phymatodes* L., *longissimum* BL., *musifolium* COPEL.), *Drynariopsis* (*heraclea* CHING), *Leptochilus* (*axillaris* KLF.), *Dendroglossa* (*zeylanica* COPEL. = *Leptochilus* z. FÉE), *Photinopteria* (*speciosa*; Fig. 52), *Drynaria* (*rigidula*; Fig. 53), *Selliguea* (*Feei* BORY) untersucht. Alle untersuchten Arten haben 2 StZ mit mehrzelligem Epi- wie Hypostom, und, was besonders wichtig ist, sie besitzen alle mit Ausnahme von *Cyclophorus Winkleri* und *Photinopteris speciosa* — an die sich nach GOEBEL (1926) *Hymenolepis spicata* anschließt — das charakteristisch eingesenkte St. mit vorgewölbten Epi- und Hypostomiumzellen, und nach GOEBEL sind hier noch zu nennen: *Cochlidium (Pleurogramme)*, *Xiphopteris*, *Enterosora*. (Vgl. S. 386 ff.)

Platycerium wurde von DIELS noch zu der — sicher nicht natürlichen — Gruppe der Acrosticheen gestellt, aus der sie GOEBELS Schüler STRASZEWSKI (1915) ausschließt; auch lehnt letzterer, anders als BOWER und COPELAND, die Verbindung von *Dipteris* und *Cheiropleuria* mit *Platycerium* ab; seiner Meinung nach sollte man für *Platycerium* eine eigene Gruppe bilden, die die Polypodiaceen (im weiteren Sinn) mit den Cyatheaceen verbindet. Nach der Beschaffenheit der Stomiumregion besteht für uns kein Zweifel, daß die Gattung mit *Polypodium* verwandt ist.

Leptochilus wird von den älteren Autoren wie HOOKER (1864), CHRIST (1897) und ALDERWERELT VAN ROSENBURGH (1909) zu den Acrosticheen gestellt, während DIELS das Genus bei den *Aspidieae-Aspidiinae* unterbringt. SCHUMANN (1915), die einige Arten dieser Gattung genauer untersucht, kommt zu dem Schluß, daß sich die Arten mit geteilter Spreite von *Dryopteris* und zwar vom Subgenus *Meniscium* ableiten, während die mit ungeteilter Spreite wahrscheinlich mit den *Polypodium*-Arten verwandt seien. Auch BOWER (1928) behandelt bei den „Dryopteroid ferns" nur Arten mit geteilter Spreite. COPELAND reiht die Gattung bei den Polypodiaceen ein, führt aber hier nur Arten mit ungeteilter Blattspreite auf. Nach unseren Untersuchungen über die Sp. können wir die Ansicht von SCHUMANN, COPELAND, BOWER bestätigen, da sowohl *L. heteroclitus* (Fig. 54) als auch *L. cuspidatus* C. CHR. den Aspidiaceen ähnliche Sp. haben, während die Sp. von *L. axillaris* KLF. (Herbarmaterial) und *Dendroglossa zeylanica* COPEL. (= *Leptochilus zeylanicus* C. CHR. bei SCHUMANN) die verkürzte Trennwand der typischen Polypodiaceen besitzen.

II. Zur Physiologie der Sporangien.

Daß in den Bogenzellen des reifen Sporangiums bei Wasserverlust Kohäsionsspannungen auftreten, die erst zur Öffnung und dann zum „Springen" führen, ist seit langem erkannt. Man hat sich bisher vorgestellt, daß die Zugspannung im noch geschlossenen Ring die Zerreißung

des sich ganz passiv verhaltenden Stomiums herbeiführt, aber wir sind bei sorgfältiger Beobachtung und Überlegung zu einer anderen Auffassung gekommen. Eine der Fragen, von denen unsere Studie zur Physiologie des Sp. ausging, war die nach der Konstanz des kritischen, zum Springen führenden Unterdrucks bei verschiedenen Sporangientypen und die damit im Zusammenhang stehende Frage, ob beim Springen immer die Kohäsion des Füllwassers überwunden wird, ohne daß Luft durch die Poren der Anuluswand stößt. Wir haben deswegen dem Vorkommen von Tüpfeln in den Wänden der Ringzellen besondere Aufmerksamkeit gewidmet und beginnen mit der Betrachtung des Wandbaues.

1. Die chemische Beschaffenheit der Zellwände.

a) Verholzung. Daß die Wände des reifen Sp., vor allem die der BZ, großenteils verholzt sind, ist bekannt (vgl. LINSBAUER 1899). Es ist leicht festzustellen, daß die Verholzung beginnt, wenn das Sp. seine endgültige Größe erreicht hat, und wie üblich geht mit der Verholzung eine Verdickung der Wände Hand in Hand. Bei der Behandlung reifer Sp. mit Phloroglucin und Salzsäure dringt das Reagens, wie die Färbung dartut, am langsamsten in die dicken Wände des Bogens ein, und zwar von der Basalwand der Zellen her, von der aus sie durch die Seitenwände zur Außenwand vordringt. Sehr rasch färben sich die Wände der Stomium- und der Wangenzellen.

Die Bedeutung der Verholzung liegt natürlich in der Erhöhung der Druckfestigkeit. Schon lange vor dem Öffnungsvorgang werden die Zellen der Sporangienwand zeitweise durch die Transpiration in Zugspannung versetzt, ebenso die anstoßenden Zellen des Stiels, während die unteren Zellen des Stiels kaum transpirieren. Die Wasserzufuhr durch den haardünnen Stiel zu dem Sp. mit seiner großen Oberfläche ist wohl recht erschwert, und die Druckfestigkeit der Wände erlaubt ein Ansteigen der Saugkraft über das Maß, das dem osmotischen Wert des Zellsaftes entspricht (vgl. RENNER 1915).

b) Cutinisierung. Schon in sehr jungen Entwicklungsstadien sind die Sp. von einer Cuticula umschlossen, die sich mit Sudan III-Glycerin nachweisen läßt. Nach TUNMANN-ROSENTHALER (1931, S. 987) ist auch 50%ige Chromsäure ein gutes Nachweismittel für die Cuticula, sowie für cutinisierte und verkorkte Wände, da sich in dieser Säure jede andere Zellsubstanz löst. Legt man junge Sp. in die Säure, so werden sie darin zerstört bis auf die Cuticula, die als dünnes, die Umrißlinien des ehemaligen Sp. beibehaltendes Häutchen übrigbleibt. An Schnitten durch die Anuli junger, noch unverholzter Sp. hebt sich in Chlorzinkjod die Cuticula der BZ gelblich von der blauvioletten Celluloseschicht ab. Nach der Lignineinlagerung ist der Nachweis der Cuticula mit diesem

Reagens nicht mehr möglich, da sich nun die gesamten Zellwände gelb färben. Legt man Schnitte durch die Anuli von Sp. verschiedenen Alters in Chromsäure, so lösen sich zunächst bei jungen Sp. alle Wände der Bogenzellen innerhalb kürzester Zeit außer der Cuticula. Auch BZ reiferer Sp., die bereits Lignin eingelagert haben, können noch verhältnismäßig rasch aufgelöst werden, aber die völlig reifer Sp. leisten der Säure tage- und wochenlang Widerstand. Auch die Wände der StZ sind an reifen Sp. recht säurefest, werden aber in etwa 12 Std doch aufgelöst.

Die Unlöslichkeit in Chromsäure läßt nach TUNMANN-ROSENTHALER auf Cutinisierung der betreffenden Wände schließen, denn verholzte Membranen lösen sich, wie wir uns an Schnitten durch Eichen- und Fichtenholz überzeugt haben, in 50%iger Chromsäure in kürzester Zeit vollständig auf. Die Cutinisierung der Wände durch Färbung mit Sudan III nachzuweisen gelingt allerdings nicht, weder an den Zellen des Bogens, noch an denen des Stomium.

Auch an der Cuticula der Anuluszellen läßt sich mit zunehmender Reife des Sp. eine Veränderung wahrnehmen; während sie sich bei jungen Sp. mit Sudan III gut sichtbar färbt, wird diese Färbbarkeit mit der Zeit immer schlechter, um sich bei voller Reife des Sp. ganz zu verlieren. Die Unlöslichkeit der Cuticula in Chromsäure bleibt allerdings nach wie vor bestehen. Es ist daran zu erinnern, daß LINSKENS (1952) beim Studium der Benetzbarkeit von Laubblättern eine gewisse Veränderung der Cuticula mit fortschreitendem Alter beobachtet hat.

Um die Membranstruktur der dickwandigen Ringzellen weiter zu klären, untersuchten wir den Anulus mit dem Polarisationsmikroskop. AMBRONN (1888) fand, daß gewisse verkorkte und cutinisierte Membranen in polarisiertem Licht negative Doppelbrechung aufweisen, die bei einer Erhitzung der Präparate etwas über 100° C in verdünntem Glycerin verschwindet und nach dem Erkalten wieder erscheint. Er schloß daraus, daß die Doppelbrechung durch eine schmelzbare Substanz verursacht wird. FREY-WYSSLING (1937b) und MEYER (1938) weisen nach, daß diese schmelzbare Substanz intermicellar eingelagertes Wachs ist, das durch seine Anordnung zwischen den Cellulosemicellen die negative Doppelbrechung cutinisierter Membranen verursacht. Wir erhitzten Schnitte durch den Bogen reifer Sp. verschiedenster Arten wie *Platycerium bifurcatum*, *Matteuccia struthiopteris*, *Alsophila excelsa* in Glycerin und fanden, daß die Doppelbrechung der Wände durch die Behandlung nicht verändert wird. Es ist zu bemerken, daß nach FREY-WYSSLING (1935, S. 89) dieser Versuch mit cutinisierten Wänden weniger leicht gelingt.

Um festzustellen, was die Doppelbrechung in den Wänden der BZ verursacht, legten wir die Schnitte 3 Wochen lang täglich in frisches

Kupferoxydammoniak (Schweitzers Reagens) und untersuchten sie während dieser Zeit im polarisierten Licht. Man sieht dann, daß die Doppelbrechung der Wände immer schwächer wird, bis nur noch ein schwacher Rest zurückbleibt, der sich hauptsächlich auf die Region der Mittellamelle in den Seitenwänden beschränkt. Legt man andererseits die Schnitte in kalte konzentrierte Kalilauge, so quellen die Schnitte zwar stark auf, aber an ihrer Doppelbrechung ändert sich nichts. Läßt man die Schnitte längere Zeit in der Lauge oder erhitzt sie kurze Zeit in ihr, so bekommt man mit Chlorzinkjod schwache Cellulosereaktion; auch zeigen die Schnitte über einem Polarisationsfilter den Chlorzinkjoddichroismus (vgl. FREY-WYSSLING 1928). Diese Versuche machen wahrscheinlich, daß für die Doppelbrechung der Zellwände Cellulose verantwortlich zu machen ist und nicht das Cutin.

ZIEGENSPECK (1944) schließt aus dem optischen Verhalten, daß Außen- und Seitenwände der BZ tangential, d. h. in der Längserstreckung des Bogens, die Querwände radial micelliert sind, unter der Annahme, daß es sich um positiv doppelbrechendes Material handelt, nämlich um Cellulose. Nach unseren eben mitgeteilten Erfahrungen ist dem nicht zu widersprechen; wir haben seine Beobachtungen an Schnitten durch den Bogen von *Platycerium* und von *Matteuccia* nachgeprüft, und weil nach unseren Erfahrungen die Doppelbrechung wirklich durch Cellulose verursacht wird, können wir auch der Folgerung beipflichten, die er in Hinsicht auf die Orientierung der Micelle zieht. Die Micellierung der Außen- und Innenwände des ganzen St. soll nach ZIEGENSPECK quer zur Längserstreckung des Bogens verlaufen. Wir finden, daß das zwar für die Epi- und Hypostomzellen zutrifft, dagegen nicht für die StZ, die sich in ihrem optischen Verhalten an die BZ anschließen.

Durch die Kombination von Verholzung und Cutinisierung werden die Bogenzellen wohl so dicht wie wenige pflanzliche Zellwände sind.

c) Die Mittellamelle zwischen den Trennzellen. Daß die Mittellamelle der Trennwand zwischen den Saumzellen aus leicht zu veränderndem Material, etwa Pektin besteht, ist z. B. von GOEBEL vermutet worden. Unmittelbar zu beobachten war eine Besonderheit in der Struktur der Trennwand nicht, so vor allem wo nur 2 StZ vorhanden sind. Deutlicher läßt eine Mittellamelle sich bei den Formen mit 3 StZ erkennen, wie bei *Adiantum peruvianum*, *A. reniforme*, *Coniogramme japonica*, *Microlepia speluncae*. An Schnitten von *Adiantum peruvianum* ließ sich feststellen, daß die ML zwischen den Trennzellen nicht, wie sonst überall im Anulus, verholzt ist. In Rutheniumrotlösung färbt sich hier allein die Mittellamelle zwischen den Trennzellen rot, die übrigen ML bleiben ungefärbt; damit ist die Pektinnatur der fraglichen Wandschicht wenigstens für diesen Fall gesichert. Nach TUNMANN-ROSENTHALER (S. 952) werden

Pektinschichten aufgelöst, wenn man sie erst mit Salzsäure-Alkohol (1 Teil HCl + 3 Teile Alkohol) und nach dem Auswaschen mit verdünnter Kali- oder Natronlauge behandelt. Sporangien von *Adiantum peruvianum*, die dieser Prozedur unterworfen waren, sind durch einen leichten Druck auf das Deckglas zur Spaltung des St. zu bringen. Noch schöner ist die Wirkung der Behandlung an isolierten Stomiumgruppen zu beobachten, die man aus den Sp. von *Alsophila excelsa* herausschneidet. In einer solchen mehrzelligen Gruppe trennen sich nach der Behandlung mehrere Zellen in der Gruppenmitte voneinander, es können hier also mehr als 2 Zellen den Charakter von Trennzellen besitzen, aber nie an den Rändern des Stomium.

2. Die Porenweite der Anulusmembranen.

Das Auftreten hoher Kohäsionsspannungen in den BZ, bis etwa 300 Atm, deutet darauf hin, daß in den Außenwänden des Bogens keine Poren vorkommen, die weiter sind als 9,28 mμ, wie Ursprung (1915) berechnet; Renner (1925) findet bei etwas weniger genauer Rechnung ungefähr denselben Wert, 10 mμ. Daß die Cuticula hier wie sonst sehr dicht gebaut ist, zeigt das diosmotische Verhalten. Die lebenden BZ lassen sich mit Rohrzucker nicht plasmolysieren, mit Glycerin nach Frenzel (1929, S. 644) auch nur von der Innenwand her; wir erinnern hier an unsere Beobachtung mit der Phloroglucinreaktion, die ebenfalls andeutet, daß das Reagens von innen eindringt und nach außen fortschreitet.

Am völlig reifen Sp. steht aber auch die Innenwand des Anulus mit Luft in Berührung, weil die Tapetenzellen verfallen sind und im Sporenraum Luft sich findet. Vollends nach dem Öffnen des Sp. im St. tritt die atmosphärische Luft von unten her an den Anulus heran. Die BZ werden ursprünglich mit den unmittelbar anschließenden Zellen durch Tüpfel und Plasmodesmen in lebender Verbindung sein, und wenn gewisse Plasmodesmenkanäle weit genug sind, könnte man sich schon vorstellen, daß bei einem Druckunterschied von 300 Atm. die Luft durch die Kanäle durchzustoßen vermag. Wir mußten uns deshalb genau über die Tüpfelbildung in den Wänden des Anulus unterrichten, wobei uns am meisten die Innenwand der BZ interessierte.

Um die Tüpfel in den Anuluszellen zu erkennen, muß man die Wände mit Chromsäure behandeln. Bringt man ganze Sp. in das Reagens, bis nur die cutinisierten Teile noch übrig sind, und legt man Stücke des Bogens mit der Innenwand nach oben, so kann man bei günstiger Lage der Zellen helle Punkte in geringer Zahl wahrnehmen, bis zu acht oder mehr je Zelle bei *Matteuccia struthiopteris* (Fig. 59, S. 381), mit einem Durchmesser von ungefähr 0,5 μ. Daß man die Tüpfel ohne Chromsäurebehandlung nicht zu sehen bekommt, wird verständlich,

wenn man Schnitte durch den Bogen betrachtet und die mächtige Innenwand (Fig. 58) vor sich hat. In einzelnen Fällen glauben wir die Tüpfel auch als Kanäle in den Schnitten gesehen zu haben, aber bei der Sprödigkeit der Wände besteht dabei immer der Verdacht, daß es sich um Risse handelt. In großer Zahl findet man feine Kanäle von nur 0,3—0,5 μ Durchmesser nach Behandlung mit Chromsäure in den Seitenwänden der BZ (Abb. 9). Hier dürfte es sich um Plasmodesmen handeln, deren Plasma durch die Behandlung zerstört ist. Auch die Wände zwischen Bogen- und Wangenzellen erweisen sich als fein, aber reich getüpfelt. Zahlreiche Tüpfel finden wir in den Innenwänden der mechanischen Zellen am Sp. von *Osmunda regalis*, mit einem größeren Durchmesser, etwa 0,7—0,8 μ weit.

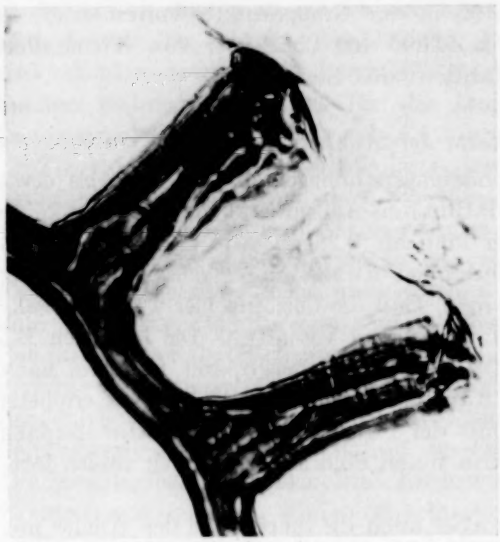

Abb. 9. Fig. 69. *Matteuccia struthiopteris*, Zelle aus einem Längsschnitt vom Bogen, nach Behandlung mit Chromsäure.

Weniger gut als durch Chromsäure lassen sich die Tüpfel durch Eau de Javelle und durch Chloralhydrat sichtbar machen, nach etwa 2stündiger Behandlung. Wir dürfen wohl annehmen, daß die beiden Reagentien die Füllung der Tüpfel bzw. der Plasmodesmen zerstören, und weil sie dazu imstande sind, ist zu vermuten, daß es sich bei dieser Füllung um nicht cellulosig degeneriertes Plasma handelt.

In den StZ sind, anders als beim Bogen, die Basalwände stärker getüpfelt als die Seitenwände; wieder mußten wir Chromsäure zu Hilfe nehmen. Am schönsten war die Tüpfelung der Innenwände am mehrzelligen St. von *Alsophila excelsa* zu sehen. Die Trennwand, die bei der Öffnung gespalten wird, läßt wenigstens in der Mitte überhaupt keine Tüpfel erkennen, anders als die übrigen Seitenwände, so bei dem dreizelligen St. von *Adiantum peruvianum*; ganz können Plasmodesmen nicht fehlen.

3. Die vor dem Springen des Ringes in seinen Zellen auftretenden Kohäsionsspannungen.

Die Bestimmung der kritischen Spannungen ist gleichzeitig (1915) von RENNER und von URSPRUNG vorgenommen worden, und mit der-

selben Methode, nämlich durch Einbringen der Sp. in kleine Kammern von definierter Luftfeuchtigkeit. URSPRUNG hat niedrige Dampfspannung hergestellt durch Schwefelsäure, RENNER durch Kochsalzlösungen. Wir haben Lösungen wasserfreien Calciumchlorids verwendet und die Sp. in Kammern von 2,5 cm Durchmesser und 1,5 cm Höhe auf Glastischchen über den Lösungen exponiert. Es sollte einerseits geprüft werden, ob die Anuli verschiedener Farne bei derselben relativen Luftfeuchtigkeit springen, andererseits, ob der Springwert, wie wir sagen wollen, sich bei mehrmaligem Springen derselben Sp. ändert.

Die folgende Tabelle legt die Ergebnisse einiger Versuche vor, die wir für sicher halten; a bedeutet den Wert beim erstmaligen, b bei wiederholtem Springen. Die Temperatur betrug 18° C, die Konzentration ist in g $CaCl_2$ in 100 g Lösungsmittel angegeben.

Tabelle 2.

Name	a)			b)		
	% $CaCl_2$	r. F. %	Atm.	% $CaCl_2$	r. F. %	Atm.
Aneimia rotundifolia . .	33,5	72,0	440	31,0	73,0	420
Blechnum gibbum . . .	31,0	74,0	400	28,0	77,0	350
Pessopteris crassifolia . .	30,0	73,3	380	28,0	77,0	350
Polypodium phymatodes.	30,0	75,3	380			
Pteris cretica				28,0	77,0	350
Platycerium bifurcatum .	28,5	76,2	360	26,5	78,6	320
Nephrolepis exaltata . .				25,5	78,9	300
Osmunda regalis	25,5	79,8	300	17,5	89,2	150

Einige Werte für die Dampfdruckerniedrigungen der wäßrigen Lösungen haben wir LANDOLT-BÖRNSTEIN (1912, S. 412) entnommen, andere Werte wurden durch graphische Interpolation gewonnen. Die Berechnung des osmotischen Wertes erfolgt nach einer bei NERNST (1926, S. 145) angegebenen Formel.

Zunächst ist zu ersehen, daß wir bei *Polypodium* und *Platycerium* ungefähr die gleichen Werte gefunden haben wie früher URSPRUNG und RENNER bei anderen „Polypodiaceen". Weiter, daß die Schizaeacee *Aneimia* mit ihrem vollständigen, dem Scheitel nahen, sehr dickwandigen Ring zum Springen etwas höhere Salzkonzentrationen benötigt als die Polypodiaceen.

Wie RENNER auseinandergesetzt hat, lassen die beim erstmaligen Springen beobachteten Werte nicht ohne weiteres auf die negative Spannung des Füllwassers im Augenblick des Springens schließen, weil die lebenden Anuluszellen Zellsaft, kein reines Wasser enthalten. Auch wenn gesprungene Sp. ihre BZ wieder mit Wasser aufgefüllt haben, ist ihr Inhalt kein reines Wasser, sondern enthält eine nicht diffusible Substanz in Lösung, die einen osmotischen Wert von etwa 7,5 Atm. (S. 653ff.) entwickelt. Im Augenblick des Springens ist die Konzentration der Lösung durch Volumverminderung wohl beträchtlich erhöht,

die Dampfdruckerniedrigung in der deformierten Zelle beruht also zu einem wohl nicht zu kleinen Anteil auf dem vorhandenen gelösten Stoff, nicht nur auf dem Spannungszustand des Wassers bzw. der Lösung. Wir haben den Inhalt der Anuluszellen von *Aneimia* nicht untersucht und müssen es offen lassen, ob der Unterschied des Springwertes gegenüber den anderen Formen durch die osmotischen Verhältnisse bedingt ist.

Frl. LAUÉ (1938) hat das Verhalten lebender und durch das Springen oder anderswie getöteter Sp. gegenüber verschiedenen Luftfeuchtigkeiten studiert (S. 213) und deutliche, aber nicht sehr beträchtliche Unterschiede gefunden; sie glaubt mit Sicherheit sagen zu können, „daß die toten Sp. durchschnittlich etwas früher springen als die lebenden". Zahlenwerte wagt sie bei der beträchtlichen Streuung nicht anzugeben.

Das Sp. von *Osmunda regalis* mit seinem platten, nicht ringförmigen Öffnungsmechanismus fällt dadurch auf, daß einerseits der Springwert der lebenden Sp. etwas niedriger ist als etwa bei *Polypodium*, und noch mehr dadurch, daß der Springwert mit dem Absterben wirklich beträchtlich abfällt. Wir erinnern uns, daß hier die Innenwand der aktiven Zellen reichlich und verhältnismäßig grob getüpfelt ist, und hier könnte nun der Fall vorliegen, daß nach dem Absterben der Plasmodesmen in den Membranen Poren entstehen, durch die Luft in die Zellen dringt, bevor noch die maximale Spannung erreicht ist. Einem Zug von 150 Atm. entspricht eine Kanalweite von etwa 20 mμ, also weniger als die Dicke der Plasmodesmen zu betragen pflegt.

Zur Prüfung dieser Verhältnisse versuchten wir durch eine künstliche Zerstörung der Plasmodesmen eine Erniedrigung des Springwertes zu erreichen. Wir legten reife, gesprungene Sp. von *Osmunda regalis* für 2—3 Std in Eau de Javelle oder Chloralhydrat. Nach dieser Behandlung treten tatsächlich in Luft schon bei einer Spannung von 80 Atm. in einzelnen Zellen Blasen auf, was einer Capillarweite von etwa 40 mμ entspricht, während andere Zellen noch ungesprungen bleiben. Die Sp. führen dabei nicht mehr die bekannte Schnellbewegung aus, da die Flüssigkeit nicht in allen aktiven Zellen gleichzeitig abreißt; bei Glycerinzugabe zu Polypodiaceensporangien kann man auch manchmal dieses ungleiche Springen beobachten, wenn die Konzentration des Osmotikums nicht ausgeglichen ist. Bei Sp. von *Matteuccia struthiopteris* läßt sich durch die Behandlung mit Eau de Javelle oder Chloralhydrat der Springwert nur um ein Geringes herabsetzen.

WALTER (1950, S. 274ff.) meint, beim Springen des Anulus werde der Capillarzug des Wassers in den Poren der Außenwand überwunden, und er gibt dazu ein schematisches Bild des Wandbaues: „Sobald die Capillaren ganz entleert sind, löst sich das Wasser von der Wand ab .... Sind diese Überlegungen richtig, so wird bei dem Farnanulus die Kohäsion überhaupt nicht überwunden." Aber dieser Annahme stehen

zwei Erfahrungen entgegen, nämlich das Springen des Anulus auch in Lösungen statt an Luft, und die viel zu geringe Porenweite der Anuluswand, die keinen Zucker durchdringen läßt, also Poren von weniger als 1 mμ Weite besitzt.

4. Die Blasen im gesprungenen Anulus.

Beim Springen des Anulus tritt in jeder BZ eine Gasblase auf, über die viel experimentiert und viel geschrieben wurde. ZIEGENSPECK (1928) hat die Frage mit eingehender Kritik der Literatur erörtert. Er kommt zu dem Ergebnis, daß die frischen Blasen keine Luft enthalten und daß auch bei jahrelangem Liegen an Luft in gesprungene Anuli so gut wie keine Luft aufgenommen wird (S. 560). Er zieht diesen Schluß aus der Beobachtung, daß die Blasen beim Einbringen der trockenen Sp. in Wasser rasch verschwinden. Unter seinen Experimenten ist wohl der interessanteste Versuch der (S. 537), in dem es ihm glückt, durch Behandlung der Sp. mit Ammoniumnitritlösung und mit angesäuertem Glycerin in den Anuluszellen Stickstoff abzuscheiden. Solche Zellen sollen in Glycerin anders aussehen als Zellen, die eben in Glycerin gesprungen sind. Bei Wasserzugabe sollen die stickstoffführenden Zellen sich nicht mit Wasser füllen (S. 538); „nicht" ist zu viel gesagt, früher oder später wird das Wasser sich doch auf dem Weg der Lösung an die Stelle des Gases setzen (vgl. RENNER 1942).

Wenn ein Anulus in Glycerin oder in konzentrierter Salzlösung springt, kann die Blase zunächst zur Hauptsache nur aus recht verdünntem Wasserdampf bestehen. Der Dampfdruck in der Blase wird sich mit der Dampfspannung des umgebenden Mediums ins Gleichgewicht setzen, also unter dem der Temperatur entsprechenden Sättigungsdruck des Wassers bleiben. Die umgebende Flüssigkeit wird lufthaltig sein, und durch die gequollene Zellwand wird mit der Zeit Luft bis zum Ausgleich des Partialdrucks in die Zelle diffundieren. Erfolgt das Springen an Luft, so wird die Blase wieder wie im ersten Fall zunächst nur Wasserdampf enthalten, weil, wie wir zu wissen glauben, mindestens beim ersten Springakt keine Luft durch die Poren stößt. Solange die Anuluswände gequollen sind, wird wieder Luft aus der Umgebung in den Vakuumraum der Zellen eindiffundieren. Mit dem Austrocknen mag die Membran für Luft unwegsam werden, unter Umständen noch ehe der Ausgleich des Druckes erreicht ist.

Wird das Sp. nach langem Trockenliegen in Wasser gebracht, so sehen wir die Blasen recht rasch kleiner werden und bald ganz verschwinden. Das mag zum Teil damit zusammenhängen, daß zuerst die Luft in den Zellen geringeren als Atmosphärendruck besitzt und Wasser durch die wieder gequollene Membran eingesogen wird. Das völlige Verschwinden der Blase, die nach unserer Meinung aus Luft besteht, beruht darauf, daß die Luft jetzt schon wegen des geringeren Durchmessers des wasserleeren Raums unter einem höheren als Atmosphärendruck steht und sich deshalb leichter löst — bei 3 μ Durchmesser der Blase ist der Gasdruck von 1 auf 2 Atm. erhöht (vgl. RENNER 1942, S. 293) —; zum wesentlicheren Teil beruht es darauf, daß die Zellflüssigkeit osmotisch wirksam ist und die Gasblase unter einen Druck von mehreren Atmosphären setzt (mindestens 7,5 Atm., RENNER 1915, S. 654). Wenn im Zellinneren entwickelter Stickstoff von mindestens Atmosphärendruck, wie ZIEGENSPECK berichtet, sich wirklich lange in Wasser hält, so wäre das ein Beweis dafür, daß in Sp., die an Luft gesprungen sind, wenig Luft durch die austrocknende Membran eindiffundiert, wie ZIEGENSPECK annimmt.

Einen neuen Weg zur experimentellen Entscheidung der — nicht übermäßig wichtigen — Frage haben wir wie folgt eingeschlagen. Zwei Objektträger, zwischen denen sich ein Tropfen Wasser und einige Sp. befinden, werden mit einem kleinen

aus Bügel und Schraube zusammengesetzten Apparat stark zusammengepreßt. Bügel und Schraube sind durchbohrt, so daß die Sp. unter dem Mikroskop im durchfallenden Licht beobachtet werden können. Zerquetscht man nun Sp., die an Luft gesprungen sind und einige Zeit an Luft gelegen haben, in Wasser, bevor die Blasen in den Anuluszellen sich aufgelöst haben, so sieht man Gasblasen aus den zerrissenen Zellen heraustreten. Ist der Druck nicht so stark, daß er die Zellen zerstört, so werden die Blasen rasch kleiner und sind in kürzerer Zeit verschwunden, als dies unter normalen Bedingungen geschieht. Hebt man den Druck rasch auf, bevor die Blasen vollständig verschwunden sind, so dehnen sie sich wieder aus.

Wendet man das Verfahren auf in Glycerin gesprungene und weiterhin in Glycerin liegende Sp. an, so verschwinden die Blasen beim Zerreißen der Zellwand. Läßt man solche in Glycerin gesprungene Anuli nach dem Abwaschen mit Wasser einige Zeit an der Luft liegen, so gelingt es wieder, kleine Blasen herauszuquetschen; es ist also etwas Luft in den Vakuumraum eingedrungen.

Wie der Widerspruch zwischen unserem Befund und dem ZIEGENSPECKS zu verstehen ist, wissen wir nicht zu sagen.

5. Die Rolle der Stomiumregion.

Die bisher geltende Ansicht über das Öffnen der Sp. hat GOEBEL (1930, S. 1329) folgendermaßen formuliert: „Die aktiven Zellen sind es, welche die Aufwärtsbewegung und dann das Losschnellen des Anulus bedingen. Die passiven Zellen gehören der Stomiumregion an. Sie bestehen zunächst aus dem eigentlichen St., dessen Zellen sich (durch Auflösung oder Spaltung der Mittellamelle) leicht voneinander trennen, so das Durchreißen der übrigen Sporangienwand erleichtern und auf eine bestimmte Stelle beschränken. Dazu kommt das Epi- und Hypostomium.... Eine bestimmte Funktion ist für diese Zellen derzeit nicht bekannt."

Wir haben uns bemüht, durch Beobachtung und Überlegung Einsicht in die Wirkungsweise des dünnwandigen Ringteils zu gewinnen. Da ist zunächst zu sagen, daß in den Zellen des St. ebenso wie in denen des Bogens beim Austrocknen Kohäsionsspannung auftritt, die zur Zerreißung des Zellsaftes führen kann; die Außenwände sind ja wie am Bogen dünner als Innen- und Seitenwände und werden an Luft wie in Glycerin eingedellt. Wenn man die Stomiumzellgruppe von *Alsophila* aus dem Sp. herausschneidet und aus Wasser in Glycerin bringt, sieht man sie in derselben Weise sich aufkrümmen, wie es der Bogen tut. Die Spaltung der Mittellamelle zwischen den Trennzellen kann also durch die Deformation dieser Zellen selbst mindestens zum Teil mit bewirkt werden, nicht nur durch den bisher allein für aktiv gehaltenen Bogen. Außerdem können StZ — wie schon oben gesagt wurde — auch „springen". Ob dieser Vorgang bei der Spaltung der Trennwand eine Rolle spielen kann, wagen wir nicht zu entscheiden; man möchte zunächst meinen, die Aufhebung der Eindellung der Außenwände müsse soweit wie möglich hinausgeschoben werden, wenn die Mittellamelle zerrissen werden soll, aber die Kohäsion des Wassers setzt eben eine

unüberschreitbare Grenze. Bemerkenswert ist es dagegen, daß die StZ oft bei einer niedrigeren Spannung springen als der Bogen, nämlich zwischen 100—200 Atm. Ob das mit der Tüpfelung der Innenwände zusammenhängt, ist nicht klar.

Weiter ist auf die Erfahrung über die Micellierung in den Wänden der verschiedenen Ringteile hinzuweisen (vgl. oben S. 396). Diese Verhältnisse haben zur Folge, daß 1. die dicken Innenwände des Bogens in der Längsrichtung kaum dehnbar sind und sich höchstens etwas krümmen können, wie sie es beim Öffnen in der einen und beim Springen in der anderen Richtung tun; 2. die ungefähr zylindrisch gewölbten Außenwände der BZ bei der elastischen Deformation durch die Eindellung in der Längsrichtung des Anulus kaum, mehr in der Richtung quer dazu nachgeben, der Schwund des Füllwassers also raschestens auf eine Verkürzung des Längsdurchmessers hin arbeitet; 3. daß die Zellen des St sich ähnlich verhalten wie die des Bogens; 4. Epi- und Hypostomium im Gegensatz zum Bogen in der Längsrichtung sich mehr dehnen als quer dazu.

Von hier aus ist es vielleicht möglich, der Wirkungsweise des St. um einen Schritt näher zu kommen. Schon vor der völligen Reife der Sporen wird das Sp. zeitweise etwas welk werden: die Außenwände der BZ werden sich eindellen, der Außenumfang des Bogens wird sich etwas verkürzen, und so wird ein gewisser Zug auf die ihren Turgor ebenfalls einbüßende Stomiumregion ausgeübt werden, noch bevor es nützlich ist, das St. aufzureißen. Epi- und Hypostom zusammen werden in solcher Lage den auf das St. ausgeübten Zug dämpfen. Hier ist auch auf die beträchtliche Tiefenverminderung hinzuweisen, die die Ringzellen beim Übergang vom Bogen zum Epistomium zeigen und die z. B. bei *Polypodium punctatum* (Fig. 48), bei *Polystichum falcatum* (Fig. 21) mit einer Einknickung der letzten BZ verbunden ist: so liegt das niedrige Epistom mehr im Bereich der sich nicht verkürzenden Innenwand des Bogens und wird einer Zugwirkung der sich um ein Geringes verkürzenden Außenseite entzogen.

Mit der Reife des Sp. verschieben sich die Verhältnisse, von der teleologischen Seite aus gesehen, wesentlich. Jetzt soll das St. aufgerissen werden, und man hat sich bisher vorgestellt, der Bogen sei dazu ohne weiteres imstande. Wie uns Herr Prof. Joos, dem wir dafür zu großem Dank verpflichtet sind, auseinandergesetzt hat, kann vom Bogen, auch wenn in den Zellen schon hoher Unterdruck herrscht, kein starker Zug auf das St. ausgehen, weil die in der Tangentialrichtung wirkenden Zugkräfte im Bogen sich von Zelle zu Zelle aufheben und die dicke Innenwand sich nicht verkürzt. Ganz anders verhält sich die Stomiumregion mit ihren niedrigen dünnwandigen Zellen: diese werden bei Wasserentziehung schrumpfeln, im extremen Fall ihre Wände

harmonikaartig fälteln, und Epi- und Hypostom werden dahin zusammenarbeiten, die Saumzellen bei genügender Erweichung der Mittellamelle voneinander zu trennen. Der erste Schritt des Öffnungsvorganges käme nach dieser Vorstellung durch aktive Tätigkeit der Stomiumregion zustande. Erst wenn der Zusammenhalt im Anulus an einer Stelle aufgehoben ist, kann der Bogen sich ohne Hindernis von dem freigewordenen Ende her erst strecken und dann aufrollen, bis er springt.

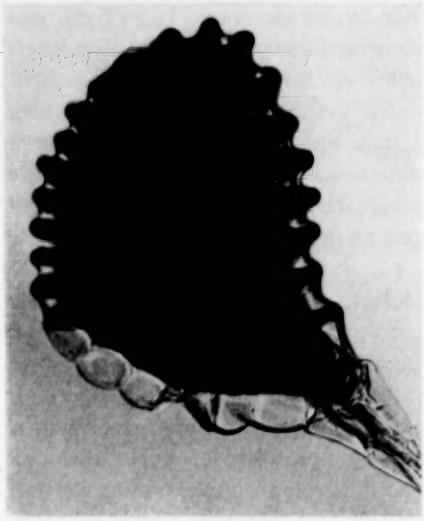

Abb. 10. Fig. 70. Sporangium von *Platycerium bifurcatum* in Glycerin. Zellen des Bogens und des Stomium eingedellt, Epi- und Hypostom prall; das ganze Sporangium zu länglicher Gestalt deformiert.

Das St. der Asplenieen scheint, wenn wir die Verhältnisse richtig verstehen, weniger gut angepaßt, weil es, von der Fläche betrachtet, sehr derbwandig aussieht. Aber Außen- und Innenwände sind nicht entfernt so dick wie die Seitenwände, und auf diese kommt es bei den betrachteten Vorgängen nicht an.

Wir haben unsere Vorstellung von der Aktivität des St. durch folgendes Experiment geprüft: An das St. eines reifen Sp., z. B. von *Didymochlaena truncatula*, *Adiantum peruvianum*, wird mit dem Mikromanipulator eine feine, mit Wasser gefüllte Capillare herangebracht. So wird dem Sp. nur am St. Wasser zugeführt, während die übrige Oberfläche transpirieren kann. Und nun vermochten die Sp. sich nicht zu öffnen, während die BZ sich tief deformierten und mitunter sogar im Innern Blasen auftreten ließen. Beim Wegnehmen der wasserspendenden Capillare tritt Öffnen und Springen der Sp. ein.

Am deutlichsten ist die aktive Rolle des St. bei *Platycerium* geworden. Oben wurde die besondere Gestaltung der Stomiumregion bei den *Polypodieae* geschildert. Und nun fiel auf, daß die Sp. sich erst öffnen, wenn die vorher hell glänzenden, gewölbten Zellen des Epi- und Hypostomium verschrumpft sind und ihr Inhalt sich gebräunt hat. Schon fast reife Sp. verhalten sich in Glycerin sehr merkwürdig (Fig. 70, Abb. 10). Die BZ dellen sich wie sonst ein. Die beiden StZ lassen ihre gewölbte Außenwand fast bis zur Berührung mit der Seitenwand einfallen, so daß die auf die Trennwand führende Rinne stark erweitert wird. Die hyalinen Epi- und Hypostomiumzellen dagegen verändern ihre Gestalt sehr wenig; ihre Außenwände bleiben gewölbt, aber nicht etwa weil die Zellen plasmolysiert würden.

Beim Austrocknen der Sp. an der Luft unter dem Deckglas werden die hyalinen Zellen unregelmäßig zerknittert. Bei Wasserzugabe werden sie wieder prall, obwohl sie sicher getötet sind. Die BZ solcher Sp. waren in Luft leicht eingedellt, bei Wasserzugabe zeigten sich überall Blasen, die bald verschwanden. Die BZ waren also jede für sich „gesprungen", ohne daß das Sp. am St. geöffnet gewesen wäre.

Der Inhalt der hyalinen Zellen läßt sich von außen mit Methylenblau nicht anfärben, weil die Cuticula dem Farbstoff den Eintritt verwehrt. Aus zerquetschten Zellen tritt eine hyaline Masse aus, die nicht verquillt und den Farbstoff sofort stark aufnimmt. Die Zellen enthalten also an Stelle der Vacuole einen „festen Zellsaft", einen kolloidalen Körper, der der Wasserentziehung durch Glycerin oder Kalisalpeter nach anfänglicher geringfügiger Verkleinerung hohen Widerstand entgegensetzt, so daß die Zellen in dem Osmotikum prall bleiben. Gelegentlich tritt in Kalisalpeter Plasmolyse ein, hier muß es sich wohl um noch nicht völlig reife Zustände handeln.

Im öffnungsreifen Sp. ist der Inhalt der Epi- und Hypostomzellen braun und unregelmäßig zusammengezogen; bald überzieht er die ganze Wand und läßt einen hellen Innenraum frei, bald liegen mehrere helle „Vacuolen" in der braunen Masse.

Bevor der Inhalt braun und schaumig wird, verfärbt er sich, mitunter homogen bleibend, ins Hellbraune. Eine solche Zelle ist zwischen noch farblosen in der Fig. 71 (S. 406) zu sehen, das St. ist eben gespalten; in Glycerin kollabieren solche Zellen etwas. Noch vor der Bräunung des „festen" Zellsaftes werden die der Innenwand anliegenden, vorher farblosen Zellkerne bräunlich, was wohl auf Absterben hindeutet. Hellbraun werden die hyalinen Zellen auch, wenn die Sp. einige Wochen unter dem Deckglas in Glycerin liegen. Das ist wohl der Anfang derselben chemischen Veränderung, die beim Reifen weiter fortschreitet.

Noch ist ein Wort über solche Sp. zu sagen, die, wenn auch schon fast reif, in Glycerin sich nicht zu öffnen vermögen. Ihr Umriß verändert sich, bald mehr, bald weniger, zu einer gestreckten Form, wie Fig. 70, S. 404 zeigt, und diese Deformation bleibt erhalten, solange in den BZ keine Blasen auftreten. Wie an Luft (vgl. oben) können aber die BZ in Glycerin springen, und dann rundet sich der Bogen wieder gleichmäßiger, wie Fig. 72 zeigt. Hier haben die meisten Zellen des Bogens unter Blasenbildung ihre Außenwand wieder gestreckt; die ersten Zellen über dem Epistom sind noch eingedellt, weil das Füllwasser noch nicht zerrissen ist, eine StZ ist gesprungen — was bei *Platycerium* nicht oft beobachtet wurde — und erscheint deshalb schwarz.

Bei den Polypodien und anderen Polypodieen sind die Epi- und Hypostomzellen nicht ganz so tief wie bei *Platycerium*, verhalten sich aber sonst so wie bei diesem.

Daß Epi- und Hypostomium an unreifen Sp. Zugwirkung von den StZ abhalten, ist auch beim Polypodieentypus wahrscheinlich. Bei völliger Reife dagegen schwinden sie und arbeiten auf die Durchtrennung der niedrigen Trennwand zwischen den StZ hin, die mit ihrer großen dünnen Außenwand selber nicht viel zur Öffnung beitragen können.

Im St. der Polypodiaceen (im weiteren Sinn) ist der Beginn des Risses durch die Beschaffenheit der spaltbaren Trennwand genau vor-

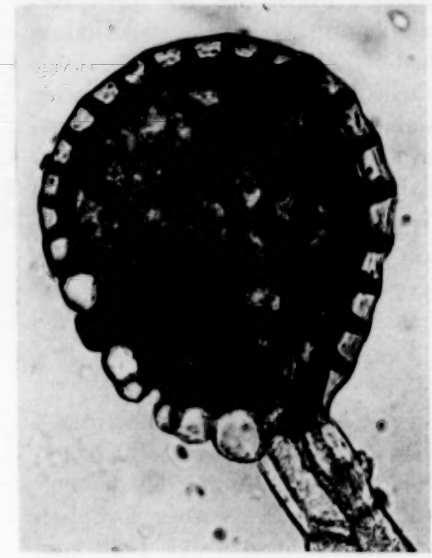

Fig. 71.

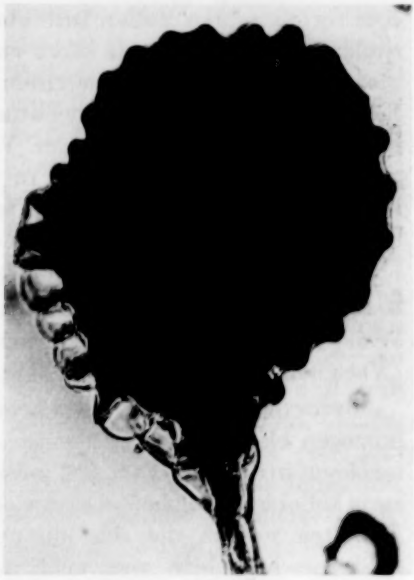

Fig. 72.

Abb. 11. Fig. 71 u. 72. *Platycerium bifurcatum*. Fig. 71. Sp. in Wasser, Stomium leicht geöffnet, im Epistom eine Zelle dunkel. — Fig. 72. Sp. in Glycerin, Zellen des Bogens, ausgenommen die beiden ersten über dem Epistom, gesprungen, mit Gasblasen; Epi- und Hypostom prall, eine Saumzelle mit Gasblase.

geschrieben; bei *Alsophila* scheinen mehrere Wände des mehrzelligen St. so beschaffen, daß sie sich spalten lassen. Der weitere Verlauf des Risses von den Enden der Trennzellen über die Wangen des Sp. folgt niemals den Zellgrenzen, wie es mitunter dargestellt wird (z. B. bei SCHLEIDEN, S. 319; bei JOST, S. 229; bei ZIEGENSPECK 1944, S. 96; bei WALTER S. 274), sondern geht quer durch die Wangenzellen hindurch bis zum „Antistomium" des Bogens. LECLERC DU SABLON (1885), dem wir einen nicht unwesentlichen Beitrag zum Verständnis der Mechanik des Farnsporangiums verdanken, hat bei *Dryopteris filix mas* das schon den alten Systematikern wohlbekannte St. überhaupt nicht gesehen, wie seine Zeichnungen ausweisen, und betont noch ausdrücklich (S. 7), die Stelle des Risses sei nicht vorgebildet.

Der Umstand, daß die Wangenzellen am völlig reifen Sp. meist tot, ihre Wände daher wohl ziemlich spröde sind, erleichtert die Rißbildung. Bei der zuletzt sehr starken Krümmung des Bogens trennt sich dieser in seiner unteren Hälfte von den Wangen ab. Der obere Teil bleibt in Verbindung mit den angrenzenden Wangenstücken und bildet mit diesen zusammen einen Wurflöffel, der die Sporen beim Losschnellen fortschleudert; ATKINSON (1898, S. 69) deutet die Bahnen der Sporen an.

Von größter Bedeutung für ein zeitgemäßes Arbeiten des ganzen Anulussystems ist sicher die Wasserversorgung, die aufs feinste abgestimmt sein muß. Wasserzufuhr und Wasserverlust durch die Transpiration sind für die Bilanz gleich wichtig, und während vor der Reife ein Mißverhältnis zwischen Zufuhr und Abgabe vermieden werden muß, verlangt die Öffnung bei der Reife gerade eine ungünstige Wasserbilanz. Wenigstens über den Weg, den das Wasser im Sp. vom Stiel her nimmt, haben wir einige Einsicht zu gewinnen versucht.

6. Stoffbewegung im Sporangium.

Bei der Wichtigkeit, die die Wasserversorgung für das Leben der Sp. hat, möchte man sich gern ein Bild vom Weg des Wassers machen. Daß der Bogen trotz der Dicke und trotz der Cutinisierung seiner Wände Stoffbewegung von Zelle zu Zelle leicht ausführen kann, darauf deuten die zahlreichen Plasmodesmen hin, die die Querwände durchsetzen (vgl. Abb. 8). Wir möchten aber gern wissen, ob der Scheitel der Sp. vorzugsweise durch den Bogen oder durch andere Teile der Wand mit Wasser versorgt wird. Zur Prüfung der Frage haben wir die STRUGGERsche Methode der Fluorochromierung verwendet, für deren Wert, wenn sie auch immer noch etwas Problematisches hat, kürzlich L. BAUER (1953) wieder eingetreten ist.

Wenn man Fiedern fertiler Wedel von *Dryopteris filix mas* in Lösungen von Berberinsulfat (1:1000) einstellt, kann man im UV-Licht verfolgen, wie der Farbstoff durch die Gefäßbündel zu den Sori kommt. Nimmt man einen unreifen Sorus, den der Farbstoff vor einiger Zeit erreicht hat, ab und untersucht die isolierten Sp., so sieht man diese verschieden weit gefärbt, die einen erst im Stiel, die anderen mehr oder weniger weit hinauf. Durch Vergleich der verschiedenen Zustände läßt sich ablesen, daß der Farbstoff im Bogen von Zelle zu Zelle bis zum Scheitel aufsteigt und erst von dort aus sich abwärts in die Wangen und zur Stomiumregion bewegt; die grellgelbe Fluorescenz des Berberinsulfats ist von der blasser gelben Eigenfluorescenz der Wände sicher zu unterscheiden. Auch die Sporen färben sich erst, wenn der Farbstoff den ganzen Anulus durchsetzt hat. Eigentümlich wirkt, daß die Stielzellen, die der Farbstoff ja durchwandern muß, mit ihren dünnen Wänden

weniger stark fluorescieren als die später erreichten dickwandigen BZ. In reife Anuli dringt der Farbstoff nicht mehr ein wegen der dichten Struktur ihrer stark cutinisierten Wände.

Am springreifen Sp. sind nur die Anuluszellen immer lebend und plasmolysierbar, die Wangenzellen sind meistens tot. In diesem Zustand kann nur der Anulus für Wasser wegsam sein. Aber das Experiment mit Berberinsulfat macht wahrscheinlich, daß auch vorher der Anulus die bevorzugte Wasserbahn darstellt. Das Wasserdefizit, das zur Öffnung führt, könnte durch Verminderung der Wegsamkeit des Stiels oder des Anulus oder durch Steigerung der Transpiration herbeigeführt werden. Die fortschreitende Cutinisierung der Wände des Bogens mag den Anteil, den die Wände an der Beförderung des Wassers nehmen, verringern. Und die Veränderung der Cuticula des Bogens, die zuletzt mit Sudan nicht mehr färbbar ist, mag die Transpiration etwas erhöhen.

Bei horizontalem Verlauf des vollständigen Rings (wie bei den Schizaeaceen) müssen die Wangen für die Wasserbeförderung aufkommen; durch einen Versuch mit Berberinsulfat haben wir geprüft, daß hier nicht etwa eine bestimmte Wasserleitungsbahn bevorzugt ist. Hier leben die Wangenzellen augenscheinlich auch so lange wie der Anulus oder länger.

Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse.

Die Variabilität der Sporangiengestaltung, besonders der Stomiumregion, ist bei den Polypodiaceen (im weiteren Sinn) größer als gemeinhin angenommen wird. Für die Aufklärung der verwandtschaftlichen Beziehungen strittiger Formen ist von der genaueren Vergleichung der Sp. noch mancher Gewinn zu erwarten. Besonders charakteristisch sind das Stomium der Asplenieen, über dem ein dünnwandiges Epistom fehlt, und das Stomium der Polypodieen mit einer tiefen Rinne zwischen den Saumzellen.

Seiten- und Innenwand der Stomiumzellen sind am reifen Sporangium immer stärker als die des Epi- und Hypostoms, nur die Außenwände sind dünn.

Im reifen Zustand sind die dicken Wände des hochaktiven „Bogens" am Ring nicht nur verholzt, sondern auch cutinisiert, und ebenso, wenn auch in schwächerem Maße, die dünneren Wände des Stomium.

Die Mittellamelle der Trennwand zwischen den Saumzellen wurde in günstigen Fällen als aus Pektin bestehend erkannt. Die Cuticula des Anulus ist nur in jüngeren Stadien, nicht mehr am völlig reifen Sporangium, mit Sudan III färbbar.

Die dicken Querwände der Bogenzellen sind, wie sich erst nach Behandlung mit Chromsäure erkennen läßt, von zahlreichen feinen Plasmodesmen durchsetzt, die dicken Innenwände tragen sehr wenige,

etwas weitere Tüpfelkanäle; etwas reicher getüpfelt sind die Wände zwischen Bogen- und Wangenzellen.

Die Micelle sind in den Außen- und Innenwänden des Bogens wie des Stomium in der Längsrichtung des Anulus orientiert, im Epi- und Hypostom quer dazu.

Der Bogen ist bei der Öffnung des Sp. nicht in dem Maß, wie bisher angenommen wurde, allein aktiv gegenüber einer inaktiven Stomiumregion. Solange das Stomium nicht gespalten ist, vermag der Bogen auch beim Schwinden des Füllwassers nur geringe Zugwirkung gegen das Epistomium hin auszuüben wegen der Starrheit seiner Innenwände; erst wenn der Zusammenhalt im Anulus aufgehoben ist, streckt der Bogen sich vom Epistom her.

Die Öffnung des Stomium wird zur Hauptsache durch den Zug der bei ausbleibender Wasserversorgung schwindenden Epi- und Hypostomzellen besorgt, und die Stomiumzellen selber tragen zur Spaltung der sie verbindenden Mittellamelle bei, indem ihre Außenwände sich wie die des Bogens eindellen, wobei ein Zug auf die Seitenwände ausgeübt wird.

Bei *Platycerium*, *Polypodium* und verwandten Gattungen öffnet sich das Stomium erst, wenn die zuvor einen „festen Zellsaft" enthaltenden Epi- und Hypostomzellen verschrumpft sind.

Beim ersten Springen der lebenden Bogenzellen wird die Kohäsion des Füllwassers überwunden. Bei wiederholtem Springen kann besonders an den mechanischen Zellen von *Osmunda* wohl Luft durch die Plasmodesmenkanäle der Innenwand ins Lumen stoßen und den Zusammenhang vorzeitig, bei einer Spannung von 150 Atm. oder sogar 80 Atm., aufheben.

Die für die kritische Deformation nötige Dampfspannungserniedrigung wird bei den Polypodiaceen, wie schon früher ermittelt, durch Lösungen erreicht, die einen osmotischen Wert von etwa 350 Atm. besitzen, bei *Aneimia* erst bei 440 Atm. Wie weit an der Erniedrigung des Dampfdruckes osmotisch wirksame Substanz in den Bogenzellen beteiligt ist, bleibt noch immer etwas unklar.

Nach Versuchen mit dem fluorescierenden Berberinsulfat dürfte der Bogen zur Hauptsache die Bahn für die Wasserversorgung des Polypodiaceensporangiums darstellen.

Literatur.

Alderwerelt van Rosenburgh, C: Malayan Ferns. Batavia 1909. — Ambronn, H.: Über das optische Verhalten der Cuticula und der verkorkten Membranen. Ber. dtsch. bot. Ges. **4**, 226—230 (1888). — Arbalàez, P.: Die natürliche Gruppe der Davalliaceen. Bot. Abh., herausgegeb. v. K. v. Goebel, H. 14. Jena 1928. — Atkinson, G. F.: The Study of the Biology of Ferns. New York 1894. — Bauer, L.: Zur Frage der Stoffbewegungen in der Pflanze. Planta (Berl.) **42**, 367—451

(1953). — BOWER, F. O.: The Origin of a Land Flora. London 1908. — Studies in the phylogeny of the Filicales. I. Plagiogyria. Ann. of Bot. **24**, 423—450 (1910). — V. Cheiropleuria bicuspis, and other related ferns. Ann. of Bot. **29**, 495—529 (1915). — VI. Ferns showing the "Acrostichoid" condition. Ann. of Bot. **31**, 1—39 (1917). — VII. The Pteroideae. Ann. of Bot. **32**, 1—68 (1918). — The Ferns. Vol. I. Cambridge 1923. Vol. II. Cambridge 1926. Vol. III. Cambridge 1928. — Primitive Land Plants. London 1935. — CAMPBELL, D. H.: Mosses and Ferns. New York 1895, 2. Aufl. 1905. — CHRIST, H.: Die Farnkräuter der Erde. Jena 1897. — Filicinae in R. v. WETTSTEIN, Ergebnisse der Botanischen Expedition der kaiserl. Akad. der Wiss. nach Südbrasilien 1901. I. Bd., 1. Halbb. Denkschr. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **77**, 1—57 (1908). — CHRISTENSEN, C.: Index Filicum. Hafniae 1906. — COPELAND, E. B.: Genera Filicum, the Genera of Ferns. Waltham 1947. — DIELS, L.: In ENGLER u. PRANTL, Die Natürlichen Pflanzenfamilien, Teil 1, 4. Abt. Leipzig 1898 bzw. 1902. — FÉE, A. L. A.: Genera Filicum. Strasbourg 1850—1852. — Iconographie des Espèces Nouvelles. 6., 7., 8. mém., Paris 1854—1857. — 11. et dernier mém., Paris et Strasbourg 1865. — Cryptogames Vasculaires du Brésil, Bd. I. Paris 1869. Bd. II. Paris 1872—1873. — FRENZEL, P.: Über die Porengröße einiger pflanzlicher Zellmembranen. Planta (Berl.) **8**, 642—665 (1929). — FREY-WYSSLING, A.: Das Wesen der Chlorzinkjodreaktion und das Problem des Faserdichroismus. Jb. wiss. Bot. **67**, 597—634 (1928). — Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin 1935. — Über die submikroskopische Morphologie der Zellwände. Ber. dtsch. bot. Ges. **55**, 119—132 (1937). — GIESENHAGEN, K.: Die Farngattung Niphobolus. Jena 1901. — GOEBEL, K.: Archegoniatenstudien. 16. Vittariaceen und Pleurogrammaceen. Flora (Jena) **117**, 91—132 (1924). — 18. Roraimafarne. Flora (Jena) **124**, 1—37 (1929). — Beiträge zur Kenntnis der Verwandtschaftsverhältnisse einiger javanischer Farne. Ann. Jard. bot. Buitenzorg **36**, 107—160 (1926). — Organographie der Pflanzen, II. Teil, 2. Aufl. Jena 1918. 3. Aufl. Jena 1930. — MEGI, G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Bd. 1. München 1906. 2. Aufl. Hünchen 1935. — HOOKER, W. J.: Species Filicum. London 1846—1864. — HOOKER, W. J., and J. G. BAKER: Synopsis Filicum. London 1883. — JOST, L.: Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 1. Aufl. Jena 1904, 3. Aufl. Jena 1913, 4. Aufl. Jena 1923. — KNY, L.: Wandtafeln für den naturwissenschaftlichen Unterricht. Berlin 1874—1895. — KÜNDIG, J.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Polypodiaceensporangiums. Hedwigia **27**, 1—11 (1888). — KUNZE, G.: Analecta Pteridographica. Lipsiae 1837. — Die Farnkräuter in kolorierten Abbildungen. Leipzig 1840—1847. — Pteridographische Studien. Bot. Z. **7**, 865—867 (1849). — LANDMANN, ALICE: Beiträge zur Kenntnis der Verwandtschaftsverhältnisse einiger Farngattungen. Flora (Jena) **125**, 359—426 (1931). — LANDOLT-BÖRNSTEIN: Physikalisch-Chemische Tabellen, 5. Aufl., Bd. 1. Berlin 1923. — LAUÉ, ERIKA: Untersuchungen an Pflanzenzellen im Dampfraum. Flora (Jena) **132**, 193—224 (1938). — LECLERC DU SABLON, M.: Recherches sur la dissémination des spores dans les Cryptogames vasculaires. Ann. des Sci. natur. VII. Sér. **2**, 5—27 (1885). — LINSBAUER, K.: Zur Verbreitung des Lignins bei den Gefäßkryptogamen. Österr. bot. Z. **49**, 317 bis 320 (1899). — Illustriertes Handwörterbuch der Botanik, 2. Aufl von C. K. SCHNEIDER. Leipzig 1917. — LINSKENS, H. F.: Über die Änderung der Benetzbarkeit von Blattoberflächen. Planta (Berl.) **41**, 40—51 (1952). — LOTSY, J. P.: Vorträge über Botanische Stammesgeschichte, Bd. 2. Jena 1909. — LUERSSEN, CH.: Die Farnpflanzen. In RABENHORSTS Kryptogamenflora, Bd. 3. Jena 1889. — MAIRE, R.: Flore de l'Afrique du Nord. Paris 1952. — MANTON, IRENE: Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta. Cambridge 1950. — MARTIUS, C. F. PH. DE: Icones Plantarum Cryptogamicarum. Monachii 1828—1834. — METTENIUS, G.: Filices Horti Botanici Lipsiensis. Leipzig 1856. — Über einige

Farngattungen. Bd. I. Polypodium. Frankfurt a. M. 1857. Bd. II. Plagiogyria. Frankfurt a. M. 1858. — MEYER, MADELAINE: Die submikroskopische Struktur der kutinisierten Zellmembranen. Protoplasma (Berl.) **29**, 552—586 (1938). — MOORE, TH.: Index Filicum. London 1857. — MÜLLER, C.: Zur Entwicklungsgeschichte des Polypodiaceensporangiums. Ber. dtsch. Bot. Ges. **11**, 54—72 (1893). — NERNST, W.: Theoretische Chemie, 11.—15. Aufl. Stuttgart 1926. — REESS, M.: Zur Entwicklungsgeschichte des Polypodiaceensporangiums. Jb. wiss. Bot. **5**, 217—237 (1886). — RENNER, O.: Theoretisches und Experimentelles zur Kohäsionstheorie der Wasserbewegung. Jb. wiss. Bot. **56**, 617—667 (1915). — Die Porenweite der Zellhäute in ihrer Beziehung zum Saftsteigen. Ber. dtsch. bot. Ges. **43**, 207—211 (1925). — Hydrostatischer Druck und Gasgehalt. Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 292—294 (1942). — Bau und Funktion des Ringes am Farnsporangium. Sitzgsber. Bayer. Akad. Wiss., math.-naturwiss. Kl. **1954**. — SACHS, J.: Lehrbuch der Botanik. Leipzig 1868. 4. Aufl. 1874. Neubearb. von K. GOEBEL 1887. — SADEBECK, R.: Pteridophyta, Einleitung. In ENGLER u. PRANTL, Die natürlichen Pflanzenfamilien, Teil 1, 4. Abt. Leipzig 1898 bzw. 1902. — SCHLEIDEN, M. J.: Grundzüge der wissenschaftlichen Botanik. 3. Aufl. Leipzig 1850. 4. Aufl. Leipzig 1861. — SCHLUMBERGER, O.: Familienmerkmale der Cyatheaceen und Polypodiaceen. Flora (Jena) **102**, 383—444 (1911). — SCHMEIL, O., u. A. SEYBOLD: Lehrbuch der Botanik, Bd. 1, 54. Aufl. Leipzig 1950. — SCHNARF, K.: Beiträge zur Kenntnis des Sporangienwandbaues der Polypodiaceen und Cyatheaceen. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl. **113**, 546—573 (1904). — SCHOTT, H.: Genera Filicum. Vindobonae 1834. — SCHUMANN, EVA: Die Acrosticheen und ihre Stellung im System der Farne. Flora (Jena) **108**, 201—260 (1915). — STRASBURGER, E.: Das Botanische Praktikum, 2. Aufl. Jena 1887. — STRASZEWSKY, H. v.: Die Farngattung Platycerium. Flora (Jena) **108**, 260—310 (1915). — TUNMANN-ROSENTHALER: Pflanzenmikrochemie, 2. Aufl. Berlin 1931. — URSPRUNG, A.: Über die Kohäsion des Wassers im Farnanulus. Ber. dtsch. bot. Ges. **33**, 153—171 (1915). — VERDOORN, F.: Manual of Pteridology. The Hague 1938. — WALTER, H.: Grundlagen des Pflanzenlebens, 3. Aufl. Stuttgart 1950. — WETTSTEIN, R. v.: Handbuch der Systematischen Botanik, 4. Aufl. Leipzig u. Wien 1935. — ZIEGENSPECK, H.: Zur Theorie der Bewegungs- und Wachstumserscheinungen bei Pflanzen. Bot. Archiv **21**, 449—647 (1928). — Federfestigung und Dehnbarkeit als Folge des Micellverlaufs. Beih. bot. Cbl., Abt. A **62**, 78—106 (1944).

Dr. KONRAD HAIDER, Frankfurt a. M., Mendelsohnstr. 81.

Planta, Bd. 44, S. 412—436 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

ZUR WIRKUNGSWEISE DES WUCHSSTOFFES AUF DAS STRECKENWACHSTUM DER WURZEL*.

Von

GERTRUD OCHS.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1954.)

A. Einleitung.

Als im Jahre 1936 BOYSEN JENSEN und THIMANN eine Beschleunigung des Wurzelwachstums durch schwache Heteroauxinlösungen beobachteten und GEIGER-HUBER und BURLET (1936) an isolierten Wurzeln eine Wuchsstoffwirkkurve aufzeigten, die den Charakter einer Optimumkurve aufwies, wurde die Abhängigkeit des Wurzelwachstums vom Wuchsstoff und seiner Konzentration in der Folgezeit dahingehend beurteilt, daß Sproß und Wurzel im Prinzip gleich reagieren. Für die Wurzel machte man nur die Einschränkung, daß ihre Empfindlichkeit auf Wuchsstoff bedeutend höher sei als die des Sprosses.

Gegen diese Deutung müssen aber neuerdings Bedenken erhoben werden. So schreibt BURSTRÖM (1950) dem Wuchsstoff in der Wurzel 2 Wirkungsweisen zu, von denen eine einen wachstumsfördernden, die andere aber einen wachstumshemmenden Effekt besitzt. POHL (1952) kommt auf Grund einer theoretischen Folgerung zu dem gleichen Ergebnis und weist dabei dem Wuchsstoff 2 Reaktionsorttypen in der Zelle zu. Eine Bindung des Wuchsstoffmoleküls mit dem einen bedingt die Wachstumsförderung, am anderen die Wachstumshemmung. Beide dabei ausgelösten Prozesse könnten sich, da sie unabhängig voneinander verlaufen, mehr oder weniger überlagern. Diese theoretische Folgerung bedarf noch des experimentellen Beweises. Dazu können folgende Wege eingeschlagen werden:

1. Untersuchungen der Wirkungen verschiedener Wuchsstoffe auf das Wurzelwachstum dürften an Hand der konstitutionellen Verschiedenheit der angewandten Wirkstoffe gewisse Aufschlüsse über den wachstumshemmenden und wachstumsfördernden Prozeß geben (THIMANN 1950).

2. Bei Anwendung von Hemmstoffen in Kombination mit Wuchsstoffen ist zu erwarten, daß diese auf Grund ihres jeweiligen Charakters den einen oder den anderen vom Wuchsstoff ausgelösten Prozeß mehr oder weniger beeinflussen.

* Dissertation der Naturw.-math. Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

Als Hemmstoffe wären in Anwendung zu bringen:

a) Substanzen, von denen man annehmen kann, daß sie auf Grund ihrer Konstitution in Platzkonkurrenz mit den Wuchsstoffen treten. Es handelt sich dabei also um echte *Antagonisten* der Wuchsstoffe (Veldstra 1944, Bonner 1949, Veldstra und Booij 1949, Åberg 1950, 1951, 1952, Audus und Shipton 1952).

b) Substanzen, die den Wachstumsprozeß nicht als direkte Antagonisten des Wuchsstoffes, sondern nur sekundär beeinflussen und dabei dem Wuchsstoffeffekt entgegenwirken bzw. ihn aufheben (Thimann 1946). Für diese Art der Hemmstoffe schlagen wir den Namen „*Kompensatoren*" vor. — Substanzen, die über solche Sekundärprozesse die Wuchsstoffwirkung erhöhen, wären als „Synergisten" zu bezeichnen. — Zur Gruppe der Kompensatoren sind insbesondere spezifische Stoffwechselgifte (Fermentinhibitoren) zu rechnen, die in enzymatische Vorgänge eingreifen, welche ihrerseits mit Prozessen gekoppelt sind, die der Wuchsstoffwirkung unterliegen.

Zur experimentellen Überprüfung der theoretisch gefolgerten 2 Reaktionen und Reaktionsorttypen des Wuchsstoffes beim Wurzelwachstum wurden die vorstehenden Gesichtspunkte den folgenden Untersuchungen zugrunde gelegt.

B. Material und Methode.

Als Objekt für die Untersuchungen wählten wir die junge Keimwurzel von *Lepidium sativum* (Saatgut Ernte 1950 der Samenhandlung Hild, Marbach a. N.), die Moewus (1948, 1949) im sog. Kressetest zur Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes von Pflanzenextrakten verwendet hat. Für derartige Wuchsstoffgehaltsanalysen ist aber der Kressetest nur bedingt tauglich (Reinert 1950, 1952, Clauss 1952, Pohl 1952), jedoch als Vergleich für Wirkungen reiner Wuchsstofflösungen ist die Kressewurzel sehr gut geeignet (Pohl 1952). Allerdings ist auch bei solchen Untersuchungen gutes Samenmaterial, das Einhalten konstanter Arbeitsbedingungen und eine gewisse statistische Planung unerläßlich.

Alle Angaben in den nachstehenden Tabellen sind Mittelwerte von jeweils mindestens 5 Versuchen. Sie stellen (+)-Förderungen und (—)-Hemmungen des Wurzelwachstums in Prozenten der Wasserkontrollen (=100%) dar und wurden mit Hilfe der Varianzanalyse nach Fisher unter Anwendung der „Statistical Tables" von Fisher und Yates gesichert.

Als Wuchsstoffe wurden verwandt:

β-Indolylessigsäure „Merck", reinst	= IES
β-Indolbuttersäure „Merck", reinst	= IBS
α-Naphthylessigsäure „Merck", reinst	= NES
Phenylessigsäure „Merck", reinst	= PES
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure „Bayer"	= 2,4-D
2,3,5-Trijodbenzoesäure, Laborpräparat	= Tiba

Als Hemmstoffe (im erweiterten Sinne) kamen zur Anwendung:

Indol „Merck", reinst	
Tryptophan „Merck", reinst	
β-Indolformaldehyd, Laborpräparat	= IFA
β-Indoläthylalkohol, Laborpräparat	= IAA

Phenyläthylalkohol, Laborpräparat	= PAA
Kaliumcyanid „Merck", p. a.	= KCN
2,4-Dinitrophenol „Merck", reinst	= DNP
Monojodessigsäure, Laborpräparat	= MJE

Alle Laboratoriumspräparate wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. G. Hesse vom Chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br. überlassen.

Sämtliche Substanzen wurden als Stammlösung in der Konzentration 10^{-3} g je cm^3 angesetzt und aus Gründen besserer Löslichkeit, Stabilität und eines geeigneten p_H-Wertes ($p_H = 8{,}0$) mit 0,1 n KOH versetzt. Die Stammlösungen wurden im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt und die benötigten niederen Konzentrationen in den entsprechenden Verdünnungsstufen immer neu, kurz vor Beginn der jeweiligen Versuche angesetzt. Zur Durchführung des Kressetestes wurden gewöhnliche Petrischalen von 8 cm Durchmesser und Rundfilter Nr. 595 der Firma Schleicher und Schüll benützt. Abweichend von Moewus wurde statt 2 Filtern nur eines in die einzelne Schale gelegt und an Stelle von 6 cm^3 Lösung nur 5 cm^3 zugegeben. Bei einer späteren Versuchsanordnung (s. Abschnitt III) wurde die Menge der Versuchslösung auf 30 cm^3 erhöht. Jede Schale wurde mit 12 Wurzeln von 5 mm Länge beschickt und deren Zuwachs innerhalb der nächsten 17 Std bestimmt. Die Anzucht des Versuchsmaterials und die Wachstumsversuche selbst erfolgten im Dunkelraum bei 26° C.

C. Experimenteller Teil.

I. Voruntersuchungen zur Überprüfung der Testgenauigkeit.

Zunächst versuchten wir die Moewussche Standardkurve für IES mit unserem Saatgut zu reproduzieren (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Die Wirkung der IES auf das Wachstum der Kressewurzeln im Vergleich zu den von* Moewus *erhaltenen Werten.* (Lösungsmenge 5 cm^3.)

Test-Nr.	IES-Konzentration in g/cm^3								
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}	10^{-12}	10^{-13}
1	− 96	− 76,5	− 62	− 10,8	− 0,6	+ 1,3	+ 4,8	+ 3,6	+ 0,6
2	− 91,7	− 85	− 41,5	− 14	+ 1	− 1,2	+ 4,15	+ 3	+ 1
3	− 95	− 77,5	− 58,3	− 18	− 0,15	+ 0,6	+ 7,5	+ 6,3	± 0
4	− 96	− 83,5	− 61	− 18,2	± 0	+ 5,3	+ 7,6	+ 6,5	+ 1,3
5	− 93,7	− 79,2	− 45,3	− 21	− 1,5	+ 3	+ 7,5	+ 5	+ 2
Mittelwerte	− 94,4	− 78,4	− 51,3	− 16,4	− 0,16	+ 2,26	+ 6,31	+ 4,88	+ 0,78
Moewus-Werte	− 96	− 85	− 59	− 19	± 0	+ 8	+ 16	+ 12	± 0

Die Ergebnisse der Teste zeigen, daß in den wachstumshemmenden IES-Konzentrationen unsere Werte recht gut mit den Moewusschen Resultaten übereinstimmen, während im Bereich der Wachstumsförderung deutliche Differenzen gegenüber den von Moewus erhaltenen Daten auftreten. Sämtliche Unterschiede zwischen den Wirkungen der einzelnen Wuchsstoffkonzentrationen sind mit $P = 0{,}05 - 0{,}01$ gesichert. Graphisch dargestellt ergeben die Werte der Tabelle 1 die für unser Saatgut gültige, allen folgenden Untersuchungen zugrunde gelegte Standardkurve für IES (Abb. 1).

II. Über die Wirkung verschiedener Wuchsstoffe und Hemmstoffe im Kressetest.

1. Das Wachstum der Kressewurzeln in Lösungen (5 cm³) verschiedener Wuchsstoffe. Die Effekte von fünf weiteren, synthetischen Wuchs-

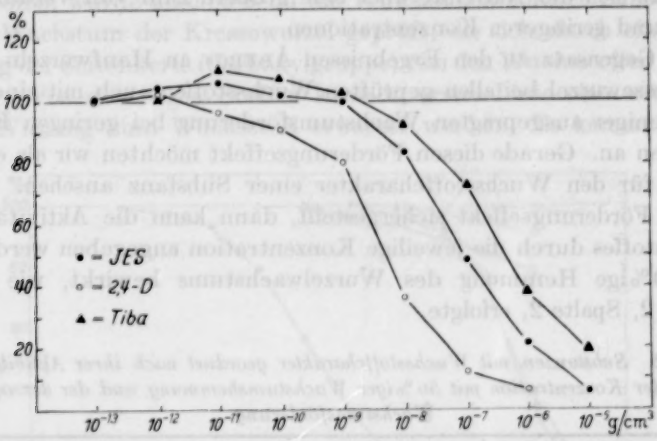

Abb. 1. Wirkungskurven von Substanzen mit relativ starkem Wuchsstoffcharakter auf das Wurzelwachstum.

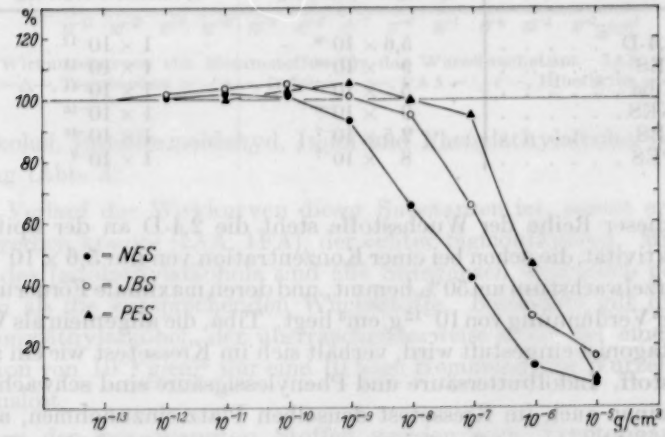

Abb. 2. Wirkungskurven von Substanzen mit relativ schwachem Wuchsstoffcharakter auf das Wurzelwachstum.

stoffen (IBS, NES, PES, 2,4-D, Tiba) wurden in allen für die Wurzel wirksamen Verdünnungsstufen einer genauen Prüfung im Kressetest unterzogen. Dabei ergaben sich Wirkungskurven mit typischem Wuchsstoffcharakter (Abb. 1 und 2).

Wir sehen zunächst, daß alle Kurven einen ähnlichen Verlauf haben, daß ihre Bereiche aber konzentrationsmäßig voneinander abweichen.

Danach kann man sie mit Åberg (1951) in schwache und starke Wuchsstoffe unterteilen. Als „schwache" Wuchsstoffe bezeichnet er solche, deren Wirksamkeit sich nur kurz, in einem relativ hohen Konzentrationsbereich erschöpft, z. B. Phenylessigsäure. Bei „starken" Wuchsstoffen erstreckt sich die Aktivität über eine größere Zahl von Verdünnungsstufen und geringeren Konzentrationen.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen Åbergs an Hanfwurzeln spricht die Kressewurzel bei allen geprüften Wuchsstoffen auch mit einer mehr oder weniger ausgeprägten Wachstumsförderung bei geringen Konzentrationen an. Gerade diesen Förderungseffekt möchten wir als ein Kriterium für den Wuchsstoffcharakter einer Substanz ansehen. Ist ein solcher Förderungseffekt sichergestellt, dann kann die Aktivität eines Wuchsstoffes durch die jeweilige Konzentration angegeben werden, die eine 50%ige Hemmung des Wurzelwachstums bewirkt, wie es in Tabelle 2, Spalte 2, erfolgte.

Tabelle 2. *Substanzen mit Wuchsstoffcharakter geordnet nach ihrer Aktivität durch Angabe der Konzentration mit 50%iger Wachstumshemmung und der der optimalen Wachstumsförderung.*

Wuchsstoff	Konzentration in g/cm³ mit	
	50%iger Hemmung	optimaler Förderung
2,4-D	$5{,}6 \times 10^{-9}$	1×10^{-12}
IES	9×10^{-8}	1×10^{-11}
Tiba	5×10^{-7}	1×10^{-11}
NES	9×10^{-8}	1×10^{-10}
IBS	$2{,}5 \times 10^{-7}$	1×10^{-10}
PES	8×10^{-7}	1×10^{-9}

In dieser Reihe der Wuchsstoffe steht die 2,4-D an der Spitze mit einer Aktivität, die schon bei einer Konzentration von nur $5{,}6 \times 10^{-9}$ g/cm³ das Wurzelwachstum um 50% hemmt, und deren maximale Förderung erst bei einer Verdünnung von 10^{-12} g/cm³ liegt. Tiba, die allgemein als Wuchsstoffantagonist eingestuft wird, verhält sich im Kressetest wie ein starker Wuchsstoff. Indolbuttersäure und Phenylessigsäure sind schwach aktiv. Sie scheinen auch im Kressetest denselben Platz einzunehmen, auf den sie andere Autoren, an Sproßorganen getestet, verwiesen haben (Bonner 1938, Bonner und Koepfli 1939, Larsen 1951). Obige Tabelle erlaubt uns weiterhin auch einen Vergleich der hemmenden mit der fördernden Wirkung eines Wuchsstoffes. Bei der 2,4-D, dem stärksten Wuchsstoff, liegen die 50%ige Wachstumshemmung und die optimale Förderung bei entsprechend geringen Konzentrationen. Doch kann bei den verschiedenen Wuchsstoffen keineswegs von der Konzentration der 50%igen Hemmung auch auf eine dieser zugeordnete bestimmte Förderungskonzentration geschlossen werden, sondern die Differenz zwischen beiden

variiert völlig unregelmäßig von Wuchsstoff zu Wuchsstoff. Wir werden bei den in Abschnitt III beschriebenen Versuchen noch einmal auf diese Ergebnisse zurückkommen.

2. Prüfung einiger Hemmstoffe im Kressetest. In Analogie zu den Wuchsstoffen wurde anschließend die Wirksamkeit solcher Substanzen auf das Wachstum der Kressewurzel geprüft, die sich durch eine Veränderung der Seitenkette (Carboxylgruppe) von den Wuchsstoffen unterscheiden. Von derartigen Stoffen kann in erster Linie eine antagonistische Wirkung zum Wuchsstoff erwartet werden. Es kamen Indol-

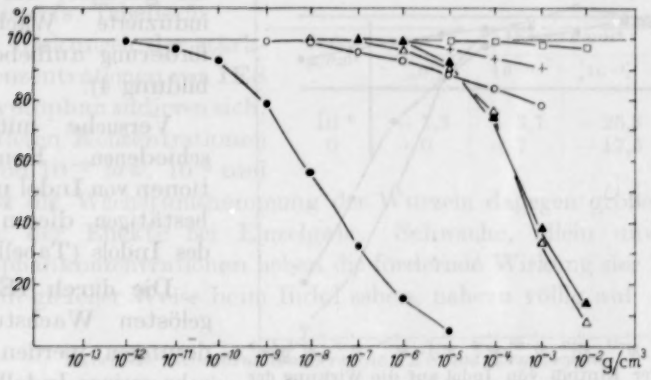

Abb. 3. Wirkungskurven von Hemmstoffen für das Wurzelwachstum. IAA = —●—, IFA = —△—, Tryptophan = —▲—, Indol = —○—, PAA = —+—, Riboflavin = —□—.

äthylalkohol, Indolformaldehyd, Indol und Phenyläthylalkohol zur Anwendung (Abb. 3).

Der Verlauf der Wirkkurven dieser Substanzen ist, soweit er völlig erfaßt werden konnte (IAA, IFA), der echter Sigmoidkurven. Mit Ausnahme des Indoläthylalkohols sind alle Substanzen wesentlich geringer wirksam als die entsprechenden Wuchsstoffe. Besonders gilt dies für den Phenyläthylalkohol, der überraschenderweise selbst bei einer Konzentration von 10^{-5} g/cm³ nur eine 10%ige Hemmung des Wurzelwachstums auslöst.

Neben den vorgenannten Stoffen wurden noch Tryptophan, Vitamin B_2 und Indol getestet. Tryptophan besitzt als Vorstufe der Indolessigsäure einen ähnlichen Wirkungsbereich wie Indolformaldehyd, die Wirkung von Vitamin B_2 auf das Wurzelwachstum ist sehr gering. Auch Indol zeigt einen flachen Verlauf der Wirkkurve, die auf Grund der schlechten Wasserlöslichkeit des Indols nur bis zu einer Konzentration von 10^{-3} g/cm³ verfolgt werden konnte.

3. Kombinationsversuche von IES mit Indol und Tryptophan. Um die Wirkung von Indol bei gleichzeitiger Anwesenheit eines Wuchsstoffes

festzustellen, wurde es den Kressewurzeln mit IES zusammen in gleicher Konzentration geboten. Die Lösungen für diese Versuchsanordnung wurden immer erst kurz vor Versuchsbeginn angesetzt und in die Testschalen gegeben. Alle anderen Versuchsbedingungen wurden beibehalten. Es zeigte sich, daß das Indol die Wirkung der IES wesentlich zu verändern vermag. Die Hemmung, die eine starke IES-Konzentration auslöst, wird herabgesetzt (bis zu 20%), und selbst sehr niedrige Indolkonzentrationen, die allein getestet keinen Effekt mehr auf das Wurzelwachstum zeigen, können die gesamte, durch IES induzierte Wachstumsförderung aufheben (Abbildung 4).

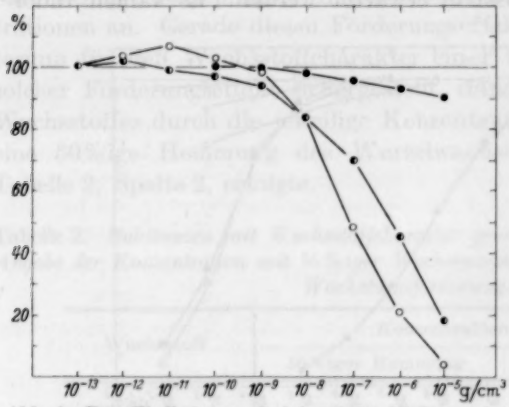

Abb. 4. Der Einfluß von Indol auf die Wirkung der IES beim Wurzelwachstum. IES = —○—, Indol = —●—, IES + Indol = —◐—.

Versuche mit verschiedenen Konzentrationen von Indol und IES bestätigen diesen Effekt des Indols (Tabelle 3).

Die durch IES ausgelösten Wachstumsförderungen werden durch sehr geringe Indolkonzentrationen, die allein völlig unwirksam sind, aufgehoben bzw. herabgesetzt. Dabei ist bemerkenswert, daß die Indolkonzentration von 10^{-12} g/cm³, die allein gegeben praktisch unwirksam

Tabelle 3. *Kombinationsversuche IES mit Indol in verschiedenen Konzentrationsgemischen.*
(Wachstumswerte in Prozenten der Wasserkontrolle.)

IES g/cm³	Indol in g/cm³				
	0	10^{-15}	10^{-14}	10^{-13}	10^{-12}
0	±0	±0	±0	±0	+0,15
10^{-12}	+5	+1,75	+1,07	+0,24	+1,8
10^{-11}	+7	+6,2	+2,7	−0,61	−1,6
10^{-10}	+3	+1,7	+1,12	−0,33	−2,1
10^{-9}	−3	±0	+0,1	+0,24	−3,31

ist, in Kombination mit den IES-Konzentrationen 10^{-11} bis 10^{-9} g/cm³ zu einer mit ansteigender IES-Konzentration stärker werdenden Hemmung führt. Eine stärkere Indolkonzentration indessen, die allein gegeben eine Wachstumshemmung bedingt, verhält sich anders (Tabelle 4).

Die fördernde Wirkung der IES wird wiederum durch Indol herabgesetzt, es resultiert aber eine Wachstumshemmung, die geringer ist als die des Indols allein. Bei schwach hemmender IES-Gabe addieren sich die Wirkungen beider Stoffe. Eine starke durch IES induzierte Wachstumshemmung wird dagegen bei gleichzeitiger Anwesenheit einer wachstumshemmend wirkenden Indolmenge gemindert.

Tabelle 4. *Kombinationsversuche IES in verschiedenen Konzentrationen mit einer hemmenden Indoldosis.*

(Wachstumswerte in Prozenten der Wasserkontrolle.)

Indol g/cm³	IES in g/cm³			
	0	10^{-11}	10^{-8}	10^{-6}
10^{-6}	− 7,3	− 3,7	− 25,8	− 54,5
0	+ 0	+ 7	− 17,5	− 79

Mit Tryptophan und IES durchgeführte Kombinationsversuche brachten ähnliche Ergebnisse (s. Tabelle 5).

Die Wirkungen der stärksten Konzentrationen von IES und Tryptophan addieren sich. In mittleren Konzentrationen (10^{-8} und 10^{-9} bzw. 10^{-5} und 10^{-6}) ist die Wachstumshemmung der Wurzeln dagegen größer als die Summe der Effekte bei Einzelgabe. Schwache, allein unwirksame Tryptophankonzentrationen heben die fördernde Wirkung der IES, wie wir es in gleicher Weise beim Indol sahen, nahezu völlig auf.

Tabelle 5. *Kombinationsversuche IES und Tryptophan.*

(Wachstumswerte in Prozenten der Wasserkontrolle.)

IES g/cm³	Ohne Tryptophan	Tryptophan g/cm³	Ohne IES	Kombination beider Lösungen
10^{-7}	− 51,8	10^{-4}	− 30,5	− 83,3
10^{-8}	− 16,5	10^{-5}	− 5,04	− 55,7
10^{-9}	− 0,16	10^{-6}	− 0,13	− 13,1
10^{-10}	+ 2,26	10^{-7}	± 0	+ 0,8
10^{-11}	+ 6,31	10^{-8}	± 0	+ 0,35

III. Die Wirkung einer erhöhten Wuchsstoffmenge auf das Wachstum der Kressewurzeln.

Die bei der bisherigen üblichen Durchführung des Kressetestes gemessenen Wachstumsförderungen schwacher Wuchsstofflösungen waren zwar statistisch gesichert und ebenso auch ihre Aufhebung durch Indol bzw. Tryptophan. Doch schien es uns für eine weitere Überprüfung des Zusammenwirkens von Wuchsstoff und Hemmstoff wünschenswert zu sein, die durch Wuchsstoff ausgelösten Wachstumsförderungen zu steigern. Einen Hinweis für eine erfolgversprechende Abänderung der Arbeitsmethode gab uns der steile Abfall der Wirkungskurven bei niedriger Wuchsstoffkonzentration. Er ließ vermuten, daß die Zahl der Wuchsstoffmolekeln bei den vorliegenden schwachen Konzentrationen

schnell verbraucht oder abgebaut wird und der Wuchsstoff somit nicht während der ganzen Versuchsdauer einwirkt. Es wurden daher je Schale nicht 5 cm³, sondern 30 cm³ Wuchsstofflösung gegeben. Um zu verhindern, daß die Wurzeln in der Lösung schwämmen, wurden in die Petrischalen 2 Glasstäbe und darauf eine Glasplatte mit 2 Rundfiltern gelegt.

Das Wachstum der Kressewurzeln in diesen 30 cm³-Wuchsstofflösungen unterschied sich im Bereich der Wachstumsförderungen, wie erwartet, wesentlich von dem in 5 cm³-Lösungen. Sämtliche Wuchs-

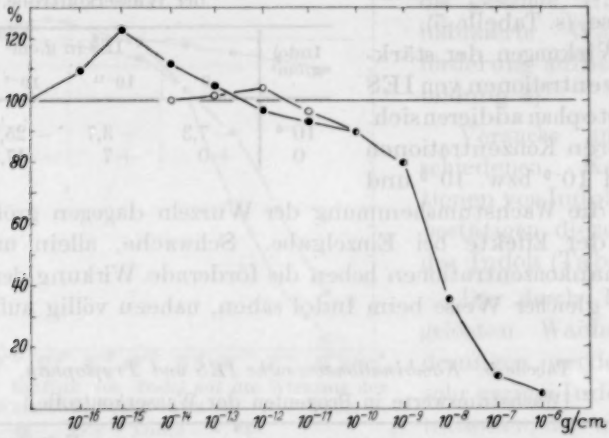

Abb. 5. Wirkungskurve der 2,4-D bei 5 cm³ (offener Kreis) und 30 cm³ (geschlossener Kreis) Testlösung.

stoffe zeigen nun eine recht betonte Wachstumsförderung, deren Optimum gegenüber den Werten des normalen Testes meist um eine Zehnerpotenz nach der schwachen Konzentration hin verschoben ist. Zum Vergleich sei hier nur einmal die Wirkung von 30 cm³- und 5 cm³-2,4-D-Lösungen auf das Wachstum der Kressewurzeln einander gegenübergestellt (Abb. 5).

Bei hohen Wuchsstoffkonzentrationen gleichen sich die dargestellten Wirkkurven vollkommen, sie weichen aber bei geringeren Konzentrationen kurz vor dem Umschlagpunkt von der Hemmung zur Wachstumsförderung voneinander ab. Die der 30 cm³-Lösung steigt mit Abnahme der Wirkstoffkonzentration zu einem Optimum der Wachstumsförderung bis zu 24% an, um dann allmählich gegen Null hin abzufallen. Die Kurve nimmt dabei mehr eine symmetrische Form an. Dieser Förderung von 24% steht eine Wachstumsförderung von nur 4% bei 5 cm³-Lösung gegenüber. Auch die sog. schwachen Wuchsstoffe, die bei 5 cm³-Lösung sich im Förderungsbereich nur wenig wirksam zeigten, rufen nun eine ganz beträchtliche Wachstumsförderung hervor. Wie die Abb. 6 wieder-

gibt, werden die Förderungsprozente bei sämtlichen Wuchsstoffen durch Erhöhung der Wirkstoffmenge um ein Vielfaches gesteigert (IES um 100%, 2,4-D um 500%). Es ist ferner nicht verwunderlich, daß gleichzeitig damit auch eine Verschiebung des Optimums zu einer geringeren Wirkstoffkonzentration verbunden ist. Die Wuchsstoffe sind über einen weiteren Konzentrationsbereich hin wirksam, selbst die Effekte der geringsten Konzentrationen konnten immer wieder reproduziert und statistisch gesichert werden.

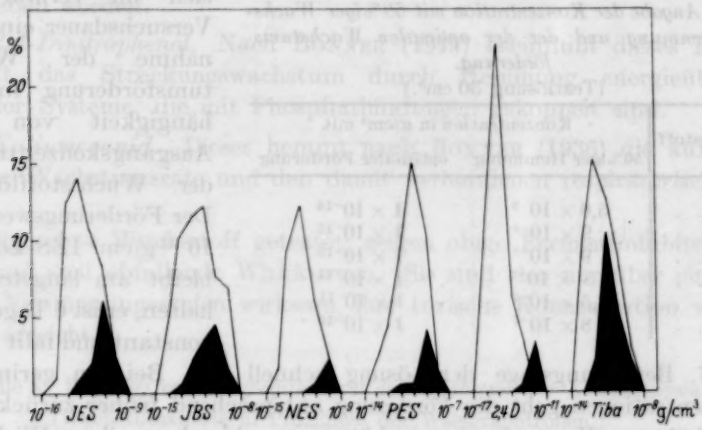

Abb. 6. Vergleich der durch Wuchsstoffe ausgelösten Wachstumsförderungen bei 5 cm³ (schwarz) und 30 cm³ (weiß) Testlösung.

Wir hatten in Abschnitt II, 1 gezeigt, daß die Differenz zwischen der Konzentration mit 50%iger Hemmung und der optimalen Wachstumsförderung von Wuchsstoff zu Wuchsstoff völlig unregelmäßig schwankt. Aus den Zahlen der Tabelle 6, die die gleichen Werte, aber bei 30 cm³-Testlösung wiedergibt, erkennen wir aber nun, daß doch eine gewisse Beziehung zwischen wachstumshemmender und fördernder Konzentration bei den einzelnen Wuchsstoffen zu bestehen scheint. Bei starken Wuchsstoffen beträgt die Differenz zwischen 50%iger Hemmkonzentration und der der optimalen Förderung um 5—6 Zehnerpotenzen, bei schwachen Wuchsstoffen dagegen um 4 Zehnerpotenzen.

Versuche zum Nachweis des Wuchsstoffverbrauches. Zur Interpretation vorstehender Versuchsergebnisse lag es nahe, die mit der größeren Testlösung vermehrte Anzahl von Wuchsstoffmolekülen für diese Resultate verantwortlich zu machen. Wir gingen dieser Frage nach, indem wir, statt immer wieder neue Wuchsstofflösungen zum Test zu verwenden, die Schalen mit den alten Testlösungen jeden Tag mit neuen Kressewurzeln beschickten. Die Rundfilter wurden dagegen jeden Tag erneuert, da bei Belassen der ersten Filter nach 2 Tagen sowohl in den

Schalen mit Wirkstofflösungen als auch in den Wasserkontrollen eine abnormale Wachstumsförderung einsetzte. Schon Bonner und Koepfli (1939) hatten dasselbe Phänomen bei Kulturen von Haferwurzeln beobachtet. Um diesen Störfaktor auszuschalten, wurde das Filtrierpapier täglich erneuert. Die Werte der Wasserkontrollen lagen dann innerhalb der normalen Streuung. Der p_H-Wert der Wuchsstofflösungen änderte sich während der ganzen Dauer des Versuches nicht merklich.

Tabelle 6. *Wuchsstoffe, geordnet nach ihrer Aktivität durch Angabe der Konzentration mit 50%iger Wachstumshemmung und der der optimalen Wachstumsförderung.*
(Testlösung 30 cm³.)

Wuchsstoff	Konzentration in g/cm³ mit	
	50%iger Hemmung	optimaler Förderung
2,4-D . .	$5{,}6 \times 10^{-9}$	1×10^{-14}
IES . .	9×10^{-8}	1×10^{-13}
NES . .	9×10^{-8}	1×10^{-12}
Tiba . .	5×10^{-7}	1×10^{-11}
IBS . .	$2{,}5 \times 10^{-7}$	1×10^{-11}
PES . .	8×10^{-7}	1×10^{-10}

Wie erwartet, findet sich im Verlauf der Versuchsdauer eine Abnahme der Wachstumsförderung in Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration der Wuchsstofflösung. Der Förderungswert der 10^{-11} g/cm³ IES-Lösung bleibt am längsten erhalten, er ist 6 Tage lang konstant und fällt dann am 7. Benützungstage der Lösung schnell ab. Bei den geringeren Konzentrationen geht die Förderung entsprechend früher zurück. Bei den höheren Konzentrationen hätte vor Abnahme ihrer Wirksamkeit ein Ansteigen derselben erwartet werden müssen, doch haben wir eine solche nicht beobachten können. Die ermittelten Zahlen lassen aber darauf schließen, daß die für das Wachstum der Kressewurzel günstigste IES-Konzentration im Bereich von 10^{-12} bis 10^{-13} g/cm³ gegeben ist.

Tabelle 7. *Wachstum der Kressewurzeln in denselben Wirkstofflösungen, täglich über 9 Tage getestet.*

IES-Konzentration	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
	Tag								
10^{-11}	+ 8,9	+ 7,4	+ 7,4	+ 9,5	+ 8,4	+ 10,1	+ 5,0	+ 2,0	± 0
10^{-12}	+ 12,5	+ 13	+ 10,5	+ 12,8	+ 10,2	+ 3	+ 1	+ 1,2	+ 1,4
10^{-13}	+ 15	+ 12,8	+ 11,7	+ 15,1	+ 4	+ 4,3	+ 1,8	+ 1,7	+ 0,2
10^{-14}	+ 10	+ 8	+ 1,8	+ 1,6	+ 0,4	+ 0,8	+ 1	+ 0,8	± 0

IV. Kombinationsteste mit Fermentgiften.

Nachdem wir durch eine Erhöhung der Testlösung auf 30 cm³ wesentlich bessere Förderungseffekte der Wuchsstoffe auf das Wurzelwachstum erzielt hatten, wurde nunmehr versucht, durch Einwirkung

von Fermentgiften die fördernde und die hemmende Wirkung der Wuchsstoffe voneinander zu trennen. Die Wuchsstoffe wurden dazu mit Fermentgiften kombiniert, deren Wirkung bisher in erster Linie nur auf das Wachstum von Sproßorganen untersucht worden ist. So kamen zur Anwendung:

a) *Monojodessigsäure.* Ihr hemmender Einfluß auf das Wachstum ist unter anderen von COMMONER und THIMANN (1936) und von THIMANN und BONNER (1948) an Weizenwurzeln und *Avena*-Koleoptilen beschrieben worden.

b) *2,4-Dinitrophenol.* Nach BONNER (1949) beeinflußt dieses Fermentgift das Streckungswachstum durch Hemmung energieübertragender Systeme, die mit Phosphatbindungen gekoppelt sind.

c) *Kaliumcyanid.* Dieses hemmt nach BONNER (1936) die auxinbedingte Wachstumsrate und den damit verbundenen respiratorischen Effekt.

Allein, ohne Wuchsstoff getestet, zeigen obige Fermentinhibitoren kurze und steil abfallende Wirkkurven. Sie sind also nur über einige wenige Verdünnungsstufen wirksam, ihre toxische Konzentration wird schnell erreicht.

Tabelle 8. *Wirkung von Enzymgiften auf das Wachstum der Kressewurzeln.* (Wachstumswerte in Prozenten der Wasserkontrollen.)

	Monojodacetat			Dinitrophenol			Kaliumcyanid		
Konzentration	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Wachstumshemmung .	± 0	$-2{,}3$	$-63{,}5$	± 0	$-6{,}3$	-72	$+1$	$-3{,}5$	-54

Die Ergebnisse der Kombinationsversuche sind in dreidimensionalen Diagrammen dargestellt. Die hintere Abschlußkurve eines jeden Diagrammes bildet die Wirkkurve der jeweiligen Wuchsstofflösung, die linke Abschlußwand die der reinen Fermentgiftlösung. Die Zwischenwände, die in diesem System von den Grundkurven aus gezogen sind, geben die Aktionskurven der Lösungsgemische wieder. Die Wachstumswerte sind wie immer in Prozenten der Wasserkontrollen abgetragen, wobei das Wachstum der Kontrollwurzeln (100%) durch eine stark ausgezogene Linie besonders markiert wurde.

Die Ergebnisse der Kombinationen von MJE mit IES, 2,4-D und Tiba geben die Abb. 7, 8 und 9 wieder. Aus ihnen geht zunächst eindeutig hervor, daß geringe MJE-Konzentrationen (1×10^{-5} und 1×10^{-4} g/cm^3), die allein getestet das Wachstum der Wurzeln nicht wesentlich beeinflussen, auch die fördernde Wirkung geringer Wuchsstoffkonzentrationen bestehen lassen. Andererseits aber schwächen sie die

hemmende Wirkung starker Wuchsstoffkonzentrationen erheblich. Besonders deutlich zeigt sich dies bei der MJE-Konzentration 1×10^{-5} g

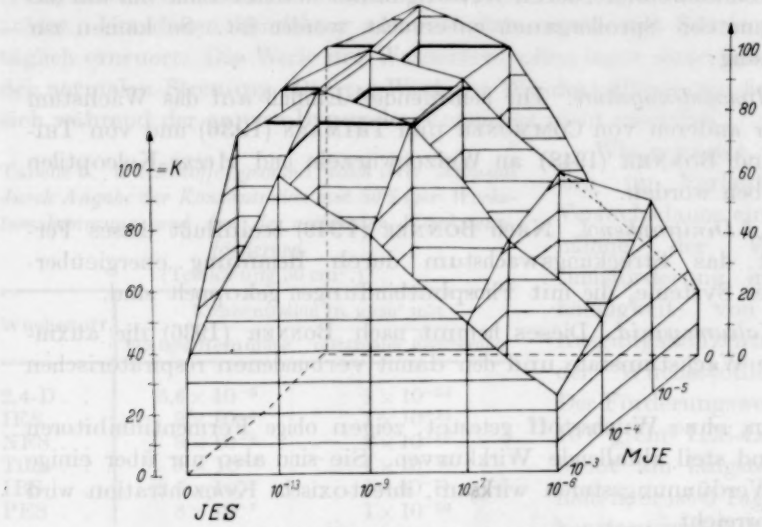

Abb. 7. Kombinationsteste IES mit MJE.

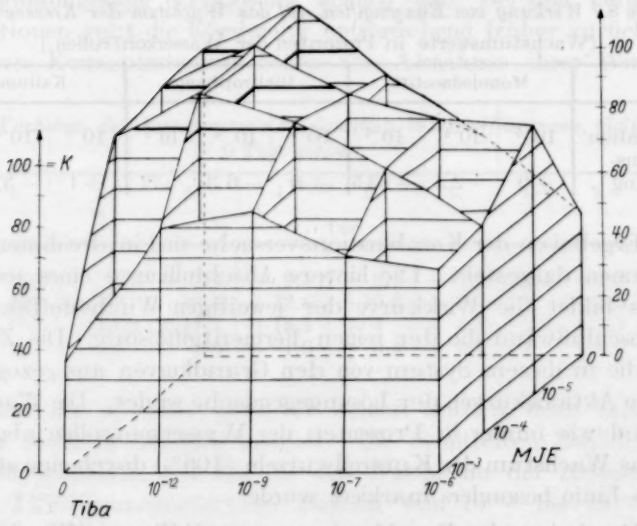

Abb. 8. Kombinationstest Tiba mit MJE.

je cm³. Der Effekt einer starken MJE-Konzentration (1×10^{-3} g/cm³) wird umgekehrt durch eine schwache Wuchsstoffkonzentration beträchtlich aufgehoben. Diese Zwischenwirkung von Fermentinhibitor und Wuchsstoff sind bei den drei überprüften Wuchsstoffen mit der gleichen

Tendenz zu beobachten, wenn auch die Stärke der Aufhebung von Wuchsstoff zu Wuchsstoff verschieden ist. So ist bei 2,4-D die Wirkung einer geringen Enzymgiftkonzentration (1×10^{-5} g/cm³) auf eine starke Wuchsstoffdosis (1×10^{-6} g/cm³) erheblich stärker als bei IES. Andererseits ist dafür die Wirkung einer geringen 2,4-D-Konzentration (1×10^{-14} g/cm³) auf eine starke MJE-Konzentration wesentlich geringer ausgeprägt als bei IES. Tiba nimmt diesbezüglich eine Mittelstellung ein.

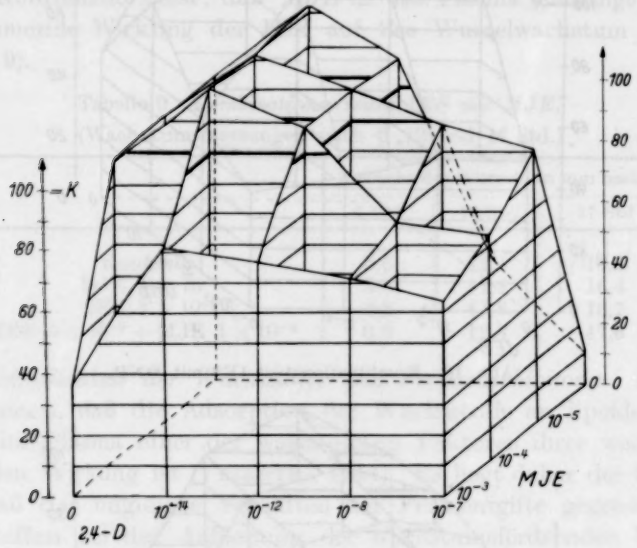

Abb. 9. Kombinationstest 2,4-D mit MJE.

Kaliumcyanid (KCN) und 2,4-Dinitrophenol (DNP) in Kombination mit IES zeigen ein von der MJE abweichendes Verhalten (Abb. 10 und 11). Die Wachstumsförderung einer schwachen Wuchsstoffdosis wird von DNP (1×10^{-7} g/cm³) ganz aufgehoben, von KCN (1×10^{-5} g/cm³) auf die Hälfte reduziert. Andererseits mindert DNP in schwacher Konzentration (1×10^{-7}) wie MJE die hemmende Wirkung einer starken Wuchsstoffkonzentration. Kaliumcyanid zeigt diesen Effekt nicht. Dafür wird aber die hemmende Wirkung einer starken KCN-Lösung (1×10^{-3} g/cm³) von einer schwachen Wuchsstoffkonzentration aufgehoben, während der hemmende Effekt einer starken DNP-Dosis (1×10^{-5} g/cm³) von einer fördernden Wuchsstoffkonzentration nicht beeinflußt wird.

Die vorstehenden Kombinationsversuche ergeben somit, daß die durch schwache Wuchsstoffkonzentrationen induzierten Wachstumsförderungen der Wurzeln nur von DNP und KCN in allein getestet unwirksamen Konzentrationen herabgesetzt wird, nicht aber von MJE,

die Wachstumshemmung starker Wuchsstoffkonzentrationen werden durch MJE und DNP aufgehoben. Es liegt aber bei keinem der erhal-

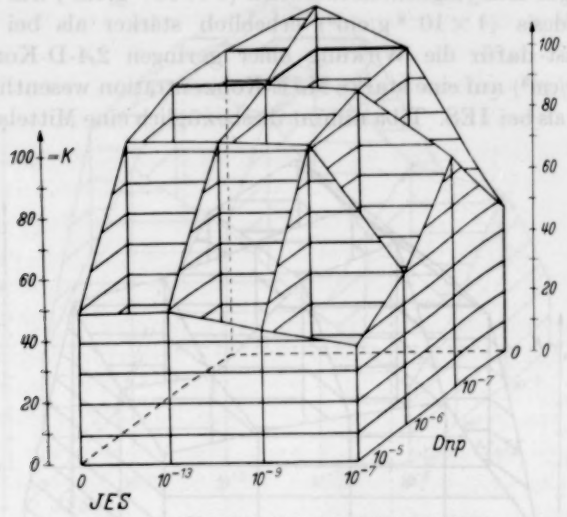

Abb. 10. Kombinationstest IES mit DNP.

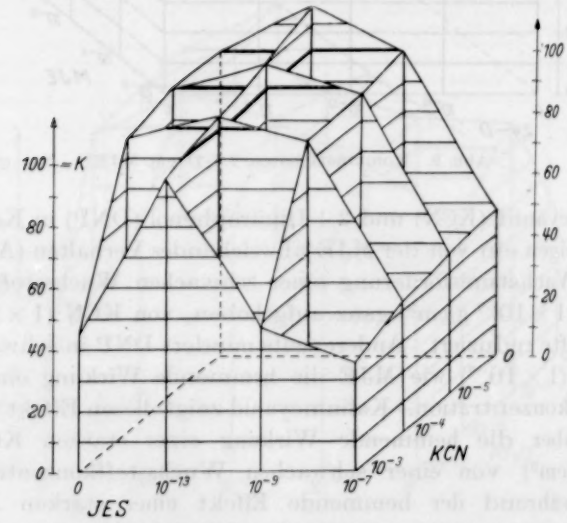

Abb. 11. Kombinationstest IES mit KCN.

tenen Werte eine additive Wirkung der Hemmstoffe mit der Wuchsstoffwirkung vor, wie ein statistischer Vergleich der Ergebnisse nach der „Estimation of class effects" (vgl. Cramér 1946) mit Bestimmtheit aussagt.

Wurde der Zuwachs der Wurzeln nicht erst nach 17 Std, sondern durch Zwischenmessungen auch nach 6 und 12 Std bestimmt, so zeigt sich, daß eine bei 1×10^{-9} g/cm³ IES in den ersten 6 Std des Testes auftretende Wachstumshemmung durch MJE aufgehoben wird, das Wachstum ist in der kombinierten Lösung MJE und IES gegenüber der Kontrolle leicht stimuliert. Wenn MJE in einer Konzentration von 1×10^{-4} g je cm³ allein getestet auch keinen Effekt auslöst, so ergibt sich doch aus diesem Kombinationstest, daß MJE in das Plasma eindringt, da sie die hemmende Wirkung der IES auf das Wurzelwachstum aufhebt (Tabelle 9).

Tabelle 9. *Kombinationsversuch IES mit MJE.*
(Wachstumsmessungen nach 6 ,12 und 17 Std.)

	Zuwachs der Wurzeln in mm nach		
	6 Std	12 Std	17 Std
Kontrolle	5,6	12,1	16,8
MJE 1×10^{-4}	5,6	11,8	16,4
IES 1×10^{-9}	4,2	11,8	16,7
IES 1×10^{-9} + MJE 1×10^{-4}	6,0	12,3	17,6

Lipoidlöslichkeit der Wuchsstoffe und Fermentinhibitoren. Es wird angenommen, daß die Adsorption der Wuchsstoffe an lipoide Grenzflächen im Plasma einer der wesentlichen Faktoren ihrer wachstumsfördernden Wirkung ist (VELDSTRA 1944). Es liegt daher der Gedanke nahe, daß das ungleiche Verhalten der Fermentgifte gegenüber den Wuchsstoffen bei der Aufhebung der wachstumsfördernden Wirkung auf Lipoidlöslichkeitsunterschiede zurückzuführen sei. Eine genaue Untersuchung der Lipoidlöslichkeit der in den beschriebenen Kombinationstesten verwandten Wuchsstoffe und Fermentgifte schien uns zur Klärung dieser Frage notwendig.

5 cm³ der reinen Wirkstofflösung (1×10^{-2} g/cm³) wurden zusammen mit 5 cm³ Olivenöl (Dichte 0,92) 24 Std lang im Reagenzglas geschüttelt. Die vollkommen gemischten Phasen wurden dann durch Zentrifugieren wieder getrennt und der Gehalt der in der wäßrigen Phase verbliebenen Substanz quantitativ-analytisch bestimmt. Für sämtliche Untersuchungen wurde eine Temperatur von 20° C eingehalten. Von jeder Substanz wurden vergleichsweise 3 Bestimmungen durchgeführt, ebenso wurde die Ausgangslösung als Kontrolle bestimmt[1].

Der IES-Gehalt der wäßrigen Phase wurde durch eine Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL ermittelt. Er betrug 49% der Ausgangslösung. Somit ist IES zu *51*% lipoidlöslich.

Der Tiba-Anteil der wäßrigen Phase wurde durch eine Halogenbestimmung nach einem von WURZSCHMITT und ZIMMERMANN (1950) vor-

[1] Herrn Doz. Dr. BATZER vom Institut für Makromolekulare Chemie, Freiburg i. Br., danke ich bestens für seine Beratung und Hilfe bei der Durchführung dieser Bestimmungen.

geschlagenen Verfahren bestimmt. Tiba erwies sich als *54%* lipoidlöslich. Mit derselben Methode wurde die Lipoidlöslichkeit von 2,4-D geprüft. Sie beträgt *61%*.

Der MJE-Anteil der wäßrigen Phase wurde durch die Acetylmethode (vgl. Pregl 1947) ermittelt. MJE ist *6,7%* lipoidlöslich. Die DNP-Bestimmung erfolgte durch eine Stickstoffbestimmung. Sie ergab für DNP eine Lipoidlöslichkeit von *73%*. Der KCN-Gehalt der wäßrigen Phase betrug etwa 19%, demnach ist KCN zu *81%* lipoidlöslich.

In der nachstehenden Diskussion wird auf diese Befunde näher eingegangen werden.

E. Diskussion.

1. Allgemeines. Die Keimwurzel von *Lepidium sativum*, die in den vorstehenden Versuchen verwandt wurde, reagiert auf Wuchsstofflösungen niedriger Konzentration mit einer Wachstumsstimulation (Moewus 1948, 1949, Audus und Shipton 1952). Wir müssen nach der heute allgemein gültigen Anschauung annehmen, daß der in der Kressewurzel vorliegende native Wuchsstoff daher unteroptimal ist. Der native Wuchsstoffspiegel ändert sich offensichtlich von Objekt zu Objekt, da Åberg (1950, 1951 und 1952) an Hanfwurzeln mit keinem der von uns angewandten Wuchsstoffen eine Wachstumsförderung erzielte. Eine wachstumsstimulierende Wirkung der Wuchsstoffe auf die Wurzel haben ebenfalls, zwar an Organkulturen, die Arbeiten von Fiedler (1936) und Geiger-Huber und Burlet (1936) aufgezeigt.

Nach der Anschauung von Lundegårdh (1950), Åberg (1952), Pohl (1952) und Audus (1952) wirkt nun ein Wuchsstoff in hohen Konzentrationen hemmend auf das Wurzelwachstum, weil er in das Plasma eindringt und dort enzymatisch gesteuerte Prozesse hemmt oder ganz blockiert. Dabei erfolgt wahrscheinlich die Adsorption des Wuchsstoffmoleküls im Binnenplasma in erster Linie unter Beteiligung seiner Seitenkette. Bei schwachen Wuchsstoffkonzentrationen, sofern sie in ungepufferten Lösungen geboten werden, werden die dissoziierten Moleküle gegenüber den undissoziierten zunehmen und damit das Eindringungsvermögen des Wuchsstoffes in das Binnenplasma herabgesetzt sein. Dennoch findet eine erhebliche Aufnahme von Wuchsstoff aus der Testlösung (s. S. 422) durch die Wurzel statt. Es liegt die Annahme nahe, daß nunmehr die Aufnahme des Wuchsstoffes nur durch Adsorption an der Plasmagrenzfläche erfolgt, wodurch mit einer Ladungsänderung der Membran eine Permeabilitätsänderung derselben bedingt wird. Für die Adsorption an der Grenzfläche ist aber der lipoide Charakter bzw. die Oberflächenaktivität einer Verbindung von ausschlaggebender Bedeutung. Verschiedene Untersuchungen (Veldstra 1944 und 1945, Veldstra und Booij 1949, Åberg 1952, Pohl 1953) unter-

stützen diese Vorstellung. Als Folgerung daraus ergeben sich für den Wuchsstoff 2 Reaktionsorte in der Zelle, über die er in das Wachstumsgeschehen eingreift. Eine ähnliche Vermutung haben LINSER und KAINDL (1951) ausgesprochen, wobei sie aber nur einem Reaktionsort einen fördernden Effekt auf das Wachstum zusprechen. Andererseits schließen VELDSTRA und BOOIJ (1949) aus ihren Versuchen mit *Beta vulgaris*, daß der Wuchsstoff in niedrigen Konzentrationen im Binnenplasma eingreift, während er erst in hohen Konzentrationen eine strukturelle Veränderung der Plasmagrenzfläche verursachen soll, die zu einer Permeabilitätserhöhung führt. Doch dürfte es sich bei diesem durch extrem hohe Wuchsstoffkonzentrationen ausgelösten Semipermeabilitätsverlust um einen Letaleffekt handeln.

2. Zerlegung der Wirkungskurven der Wuchsstoffe in eine Sigmoid- und eine Optimumkurve als theoretischer Nachweis zweier getrennter Reaktionen des Wuchsstoffes beim Wurzelwachstum. Die im Kressetest gewonnene Wirkkurve eines Wuchsstoffes läßt sich, wie POHL (1952) vorschlägt, in 2 Teile zerlegen, denen eine fördernde und eine hemmende Komponente zugrunde liegen. Diese Zerlegung erfolgt auf Grund des Sigmoidcharakters der Wirkkurven bei hohen, wachstumshemmenden Wuchsstoffkonzentrationen und einer Abweichung davon im Förderungsbereich. Der Beweis für den Sigmoidcharakter des unteren Teiles einer solchen Wirkkurve ist ihre Transformation auf eine Gerade nach der „Probittransformation" von BLISS (vgl. FISHER und YATES 1949). HELLSTRÖM (1953) hat die Wirkkurve des Wuchsstoffes auf die Wurzel als LANGMUIRsche Adsorptionsisotherme aufgefaßt, die als solche ebenfalls Sigmoidcharakter besitzen müßte, und dabei eine gute Übereinstimmung theoretischer Kurven mit den von ÅBERG (1951) gemessenen Daten gefunden. Wir haben unser Zahlenmaterial in dieser Richtung kritisch untersucht, insbesondere weil dadurch eine physikalisch-chemische Interpretation möglich ist. Die Wirkkurven der geprüften Wuchsstoffe werden nun in dem Bereich hemmender Konzentrationen zu Geraden, wenn wir die verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen und die ihnen zugeordneten Wachstumswerte in ein Koordinatensystem eintragen, dessen Ordinate nach dem GAUSSschen Integral geteilt ist (Abb. 12). Im Bereich höherer Wuchsstoffkonzentrationen sind sie daher sigmoidförmig; bei niedrigen Wuchsstoffdosen weichen sie dagegen selbstverständlich von dieser Form ab, da in diesem Bereich eine Wachstumsförderung ausgelöst wird. Diese Wachstumsförderung zeigt, wenn wir sie unabhängig von der Wachstumshemmung, der Sigmoidkurve, betrachten, den Verlauf einer Optimumkurve (POHL 1952). Dabei ist die Wachstumshemmung, d. h. der Teil der Wirkkurve mit Sigmoidcharakter, nicht als eine einfache Fortsetzung einer die Optimumkurve mitbedingenden Hemmkomponente aufzufassen. Aus den Testkurven mit

30 cm³-Lösung geht dies besonders deutlich hervor. Abb. 5 zeigt, wie im Fall der 2,4-D eindeutig die Optimumkurve der Wachstumsförderung von der Sigmoidkurve der Wachstumshemmung konzentrationsmäßig getrennt ist. Diese klare Zerlegung der Wirkkurve eines Wuchsstoffes in eine Sigmoid- und eine Optimumkurve spricht für zwei verschiedene Reaktionsmechanismen, die das Produkt zweier unterschiedlicher Adsorptionen des Wuchsstoffes sein könnten. Unter dieser Voraussetzung müßte erwartet werden, daß konstitutionell verschiedene Wuchsstoffe

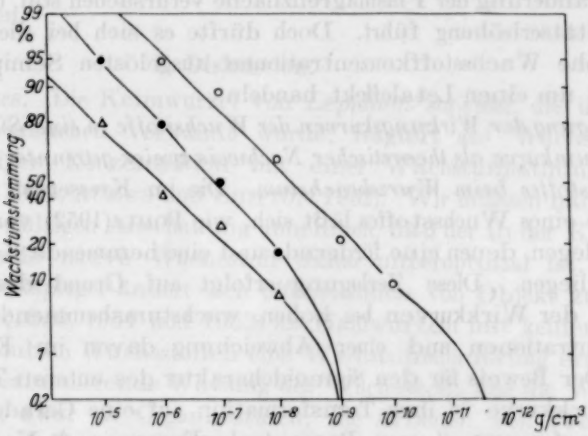

Abb. 12. Transformation der Wirkkurven von 2,4-D (—○—), IES (—●—) und Tiba (—△—) in gerade Linien durch Eintragung der prozentualen Hemmwerte in ein Wahrscheinlichkeitsnetz. Abszissenachse logarithmisch, Ordinatenachse nach dem Gaussschen Integral geteilt.

auch charakteristische Unterschiede zwischen ihrer Förderungs- und ihrer Hemmreaktion aufweisen.

3. Hemm- und Förderungseffekte der geprüften Wuchsstoffe. Die Wirkkurven strukturell verschiedener Wuchsstoffe im Kressetest wurden daher in der Erwartung aufgestellt, aus ihrem Verlauf eine Antwort auf die im vorherigen Abschnitt aufgeworfene Frage zweier Wirkmechanismen des Wuchsstoffes beim Wurzelwachstum zu erhalten.

Die strukturellen Grundbedingungen, die eine Substanz aufweisen muß, um als pflanzlicher Wuchsstoff zu fungieren, sind weitgehendst geklärt (Koepfli, Thimann und Went 1938, Veldstra 1944, Muir und Hansch 1951, van Overbeek 1951). Ein aromatisches, ungesättigtes Ringsystem und eine Carboxylgruppe als Seitenkette des Ringes sind die wesentlichsten Merkmale. Veldstra (1944) betont noch den vorwiegend lipophilen Charakter des Wuchsstoffmoleküls; Åberg (1952) faßt diese Eigenschaften allgemein zusammen in der Forderung eines oberflächenaktiven Stoffes, der eine hohe Affinität zu den spezifischen Reaktionsorten im Plasma besitzt.

Diese in erster Linie an Reaktionen von Sproßorganen festgelegten Bedingungen werden auch für das Wurzelwachstum als gültig betrachtet. Eine bindende Aussage über die Wirkung einer Substanz als Wuchsstoff für die Wurzel wird man aber nur dann machen können, wenn eine eindeutige Wachstumsförderung der Wurzel bei einer bestimmten Konzentration des betreffenden Stoffes beobachtet wird. Eine Wurzel mit supraoptimalem Gehalt an nativem Wuchsstoff ist daher schwerlich für eine solche Entscheidung geeignet. Aus einer Wachstumshemmung dieser Wurzel allein auf die Aktivität einer Substanz als Wuchsstoff zu schließen (Åberg 1951), dürfte unzureichend sein.

Die von uns geprüften und als Wuchsstoffe bezeichneten Substanzen besitzen die oben erwähnten strukturellen Eigenschaften und zeigen alle, in geringen Konzentrationen gegeben, bei der Kressewurzel eine mehr oder weniger hohe, gesicherte Wachstumsförderung. Die Stärke dieser Wachstumsförderung ist bei Anwendung von 5 cm^3-Testlösung relativ gering. Sie beträgt zwischen 2 und 7%. Nur die 2,3,5-Trijodbenzoesäure, die im *Avena*-Test kaum aktiv ist, zeigt einen relativ hohen Förderungseffekt von 10% bei einer Konzentration von 10^{-11} g/cm^3.

Åberg (1953) schreibt der Tiba, da er bei der Flachswurzel keinen glatten Sigmoidverlauf ihrer Wirkkurve findet, neben dem antagonistischen in geringeren Konzentrationen auch einen schwachen synergistischen Effekt zu. Die von uns gefundene Wachstumsförderung dieses Wirkstoffes könnte ebenfalls durch einen synergistischen Effekt zum nativen Wuchsstoff der Wurzel gedeutet werden, zumal dieser auf Grund der wachstumsfördernden Wirkung der IES in schwachen Konzentrationen als unteroptimal bezeichnet werden muß. Da aber Åberg (1951) für 2,4-D bei der Flachswurzel eine geringere Wirksamkeit als IES gefunden hat, in unseren Versuchen mit der Kressewurzel 2,4-D dagegen eindeutig entsprechend ihrer Wirksamkeit beim Sproß stärker wirksam ist als IES, ist eine Interpretation unserer Ergebnisse unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Daten Åbergs, die sich auf ein anderes Versuchsobjekt beziehen, schwierig.

Bei Anwendung von 30 cm^3-Testlösung ändert sich der Kurvenverlauf der geprüften Wirkstoffe erheblich. Insbesondere wird der Bereich der Wachstumsförderung davon betroffen, während der der Wachstumshemmung praktisch unverändert bleibt. Alle Wuchsstoffe mit Ausnahme der 2,4-D fördern nun, wenn auch in verschiedenen Konzentrationen, das Wachstum der Wurzeln um den gleichen Betrag. Dabei verschiebt sich gegenüber der 5 cm^3-Testlösung die optimale Konzentration zur stärkeren Verdünnung. Am extremsten erfolgt dies beim stärksten Wirkstoff, der 2,4-D, die bei 5 cm^3-Testlösung und einer Konzentration von 10^{-12} g/cm^3 nur eine Förderung von 3% auslöste, fördert nun das Wurzelwachstum um 23% bei einer Konzentration von nur

10^{-15} g/cm³. Es überrascht, daß auch Tiba nun ebenfalls eine erhöhte Wachstumsförderung bewirkt, die von gleicher Stärke wie die der IES ist. Mit einem synergistischen Effekt wäre diese Beobachtung nur zu erklären, wenn die allgemeinen Wachstumsbedingungen bei 30 cm³-Testlösung besser wären als in 5 cm³-Lösung. Da die Wasserkontrollen aber in beiden Fällen den gleichen Zuwachs aufweisen, müssen wir vielmehr schließen, daß die Tiba selbst, wie die anderen geprüften Wuchsstoffe, die Wachstumsförderung direkt bewirkt. Sie besitzt daher, wenigstens für die Kressewurzel, Wuchsstoffcharakter, während sie beim Sproßwachstum als Antagonist des Wuchsstoffes fungiert (Galston 1947, Thimann und Bonner 1948, de Waard und Florschutz 1948).

Der Förderungseffekt der geprüften Wuchsstoffe ist offenbar an ihre Carboxylgruppe gebunden, wie die Teste mit Indoläthylalkohol, Indolformaldehyd und Indol selbst zeigen, da diese Substanzen wohl eine mehr oder weniger starke Wachstumshemmung der Wurzel auslösen, in keinem Fall aber eine Förderung. Insbesondere muß hier auf die Wirkung von Indoläthylalkohol hingewiesen werden, der bezüglich seines wachstumshemmenden Effektes von gleicher Wirksamkeit wie die IES ist. Da die Wuchsstoffe ferner in sehr geringen Konzentrationen wachstumsfördernd wirken, kann vermutet werden, daß ihre Reaktionsorte dabei in der Plasmagrenzfläche gelegen sind und insbesondere das dissoziierte Molekül Träger der Wirksamkeit ist. Für diese Reaktion scheint weiterhin keine hochspezifische Konstitution des Wuchsstoffmoleküls erforderlich zu sein, sondern es genügt der lipophile Ring und eine Carboxylgruppe als Seitenkette, deren Abstand vom Ring eine gewisse Größe nicht überschreiten darf. Bei der wachstumshemmenden Wirkung liegen dagegen die Reaktionsorte offenbar im Binnenplasma, und für eine wirksame Bindung zwischen Substrat und Wuchsstoff ist eine differenziertere strukturelle Gestaltung des Wuchsstoffmoleküls Voraussetzung. In beiden Fällen ist aber sein lipophiler Charakter von Bedeutung, und diese Tatsache erschwert eine klare Trennung beider Reaktionen nur an Hand der Wirkkurven.

4. Die Wirkung von Wuchsstoffen und Hemmstoffen in Kombination. Die aus dem Verlauf der Wirkkurven gezogenen Vermutungen und Folgerungen über die Reaktionsweisen des Wuchsstoffes beim Wurzelwachstum werden durch die Ergebnisse der Kombinationstests erhärtet. Eine nur gering lipoidlösliche Substanz, wie Monojodacetat, beeinflußt nicht die wachstumsfördernde Reaktion der Wuchsstoffe, sofern sie nicht in einer Kombination mit dem Wuchsstoff geboten wird, die allein ohne Wuchsstoff gegeben bereits das Wachstum der Wurzel herabsetzt. Eine Konzentration von 10^{-5} g/cm³ Monojodacetat dagegen, die an sich ohne zusätzlichen Wuchsstoff keinen Effekt auf das Wurzelwachstum zeigt, vermindert die wachstumshemmende Wirkung starker Wuchs-

stoffkonzentrationen um fast 50%, ohne dabei die wachstumsfördernde Wirkung schwacher Wuchsstoffdosen zu beeinflussen. Monojodacetat muß demnach, auch wenn es allein getestet keinen Wachstumseffekt auslöst, in das Plasma eingewandert sein. Eine wachstumsfördernde Wirkung, wie sie COMMONER und THIMANN (1940) an Coleoptilzylindern bei Konzentrationen von 10^{-5} bis 10^{-6} g/cm³ Monojodacetat beobachtet haben, konnten wir bei der Kressewurzel nicht feststellen. Andererseits setzt Monojodacetat beim Sproß (Coleoptile) die wachstumsfördernde Wirkung des Wuchsstoffes herab (COMMONER und THIMANN 1940, SWEENEY und THIMANN 1942, THIMANN und BONNER 1948 und 1949, THIMANN 1950). Die gleiche Eigenschaft besitzen 2,4-Dinitrophenol und Kaliumcyanid (BONNER 1933, 1936 und 1949), die ebenfalls über das Atmungsgeschehen indirekt die Wuchsstoffwirkung beeinflussen sollen. Bei der Wurzel vermindern beide wie Monojodacetat die wachstumshemmende Wirkung starker Wuchsstoffkonzentrationen. Sie beeinflussen aber auch, insbesondere 2,4-Dinitrophenol, im Gegensatz zum Monojodacetat die wachstumsfördernde Reaktion schwacher Wuchsstoffdosen. Eine Wachstumsförderung durch Dinitrophenol allein, wie sie KANDLER (1950) an isolierten Maiswurzeln erzielte, konnte von uns an der Kressewurzel nicht festgestellt werden.

Dinitrophenol und Kaliumcyanid sind nun zu 73 bzw. 81% lipoidlöslich. Da auch Indol, dessen Lipoidlöslichkeit gegenüber seiner Wasserlöslichkeit außerordentlich groß ist, in Kombinationstests mit Wuchsstoffen die Wachstumsförderung herabsetzt, liegt der Schluß nahe, daß diese Hemmstoffe in geringen Konzentrationen durch Adsorption an den Plasmagrenzflächen in Platzkonkurrenz mit dem Wuchsstoff treten (echter Antagonismus). Es wäre auch denkbar, daß die Wachstumsförderung durch schwache Wuchsstoffkonzentrationen über einen Phosphorylierungsprozeß zustande kommt, da nach PAECH (1952) die Plasmagrenzflächen bevorzugte Orte derartiger Prozesse sind. Der Unterschied zwischen der erheblich höheren Wirksamkeit von Dinitrophenol, das spezifisch Phosphorylierungen blockiert, gegenüber dem Kaliumcyanid trotz geringerer Lipoidlöslichkeit könnte darauf zurückzuführen sein. Doch sprechen die Versuche mit dem unspezifischen Indol und Tryptophan gegen eine solche Interpretation. Vielmehr muß in Erwägung gezogen werden, daß die in Modellversuchen mit hohen Wirkstoffkonzentrationen (10^{-2} g/cm³) gewonnenen Werte für die Lipoidlöslichkeit keineswegs den Verhältnissen bei einer Verdünnung von 10^{-5} entsprechen müssen. Außerdem besitzt Dinitrophenol ein wesentlich größeres Molekül als der lipoidlösliche Cyanwasserstoff, was bei einer Verdrängung der Wuchsstoffmolekel von Bedeutung sein muß.

Der Kompensationseffekt der geprüften Hemmstoffe auf die wachstumshemmende Wirkung höherer Wuchsstoffkonzentrationen zeigt keine

derartige Abhängigkeit von der Lipoidlöslichkeit. So kann z. B. Indol in einer Konzentration von 10^{-6} g/cm³ eine synergistische Wirkung auf eine mittlere Wuchsstoffkonzentration (10^{-8} g/cm³) entfalten. Dabei kann nicht entschieden werden, ob in diesen Konzentrationen Wuchsstoff und Fermentgift über dasselbe System in das Wachstumsgeschehen eingreifen, oder ob der dem Wuchsstoff unterliegende Prozeß und der des Fermentgiftes nur sekundär miteinander gekoppelt sind. Ein direkter Antagonismus kann jedoch nicht erwartet werden, da für die binnenplasmatische Reaktion eine spezifische Ausgestaltung des Wuchsstoffmoleküls ausschlaggebend ist, wobei wahrscheinlich ein Eingreifen an 3 Punkten gewährleistet sein muß (Smith und Wain 1952).

So können diese Versuche mit Hemmstoffen als eine Bestätigung der Theorie gelten, daß dem Wuchsstoff beim Wurzelwachstum 2 Reaktionsweisen zugeschrieben werden müssen. Die wachstumsfördernde Wirkung wird durch eine Adsorption des Wuchsstoffmoleküls an die Plasmagrenzflächen ausgelöst, die Wachstumshemmung dagegen durch ein Eingreifen im Binnenplasma, wobei fermentative Prozesse beeinflußt werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Wirkkurven von 6 Substanzen mit Wuchsstoffcharakter wurden im Kressewurzeltest festgelegt. Im Bereich wachstumshemmender Wuchsstoffkonzentrationen haben diese Kurven Sigmoidform, im Bereich der Wachstumsförderung laufen sie dagegen in eine asymmetrische Optimumkurve aus.

2. Bei Erhöhung der Testlösung von 5 cm³ auf 30 cm³ wird im Kressetest die Wachstumsförderung um ein Vielfaches gesteigert. Die Wirkstoffmenge begrenzt demnach im normalen Kressetest die Stärke der Wachstumsförderung. Bei 30 cm³ Testlösung zeigt die Kurve der Wachstumsförderung nahezu symmetrischen Verlauf.

3. Indol verhält sich in geringen Konzentrationen beim Wurzelwachstum IES gegenüber als Antagonist, stärkere Indolkonzentrationen zeigen einen synergistischen Effekt. Ähnliche Ergebnisse wurden in Kombinationstests von Tryptophan mit IES erzielt.

4. Monojodacetat in schwacher Dosis beeinflußt nicht die wachstumsfördernde Wirkung der Wuchsstoffe, Kaliumcyanid setzt sie um 50% herab, Dinitrophenol hebt sie ganz auf. Die hemmende Wirkung stärkerer Wuchsstoffkonzentrationen wird dagegen von allen 3 Fermentgiften mehr oder weniger aufgehoben.

5. Bestimmung der Lipoidlöslichkeit ergab für die Fermentgifte folgende Verteilungsquotienten Olivenöl/Wasser: Monojodacetat = 0,07, Dinitrophenol = 2,7, Kaliumcyanid = 4,25, für Wuchsstoffe: IES = 1,0, Tiba = 1,17, 2,4-D = 1,56.

6. Die durch Wuchsstoff induzierte Wachstumsförderung der Kressewurzel wird durch lipoidlösliche Substanzen mehr oder weniger aufgehoben. Dies läßt den Schluß zu, daß der Wachstumsstimulation der Wurzel durch geringe Wuchsstoffkonzentrationen eine Adsorption der Wuchsstoffmoleküle an lipoide Plasmagrenzflächen zugrunde liegt. In hemmenden Konzentrationen wirkt dagegen der Wuchsstoff über binnenplasmatische, fermentativ gesteuerte Prozesse auf den Wachstumsvorgang ein.

Herrn Prof. Dr. F. Oehlkers bin ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes zutiefst verpflichtet. Herrn Doz. Dr. Pohl danke ich für die Stellung des Themas und seine wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

Literatur.

Åberg, B.: On auxin antagonists and synergists in root growth. Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 447—461 (1950). — The interaction of some auxin antagonists and 2,4-D in root growth. Physiol. Plantarum (Copenh.) **4**, 627—640 (1951). — On the effects of weak auxins and antiauxins in root growth. Physiol. Plantarum (Copenh.) **5**, 305—319 (1952). — On the growth regulating effects of some 1-naphthyl- and 2,4-dichlorphenoxyderivates without carboxylgroups. Physiol. Plantarum (Copenh.) **5**, 565—574 (1952). — On the interaction of 2,3,5-trijodobenzoic acid and maleic hydrazide with auxins. Physiol. Plantarum (Copenh.) **6**, 277—291 (1953). — Audus, L. J., and M. E. Shipton: 2,4-dichloranisole-auxin-interactions in root growth. Physiol. Plantarum (Copenh.) **5**, 430—455 (1952). — Boysen Jensen, P.: Über die Verteilung des Wuchsstoffes in Keimstengeln und Wurzeln während der phototropischen und geotropischen Krümmung. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Meddel. **13**, 3—13 (1936). — Bonner, J.: The action of growth hormones. J. gen. Physiol. **17**, 63—76 (1933). — The growth and respiration of the Avena coleoptile. J. gen. Physiol. **20**, 1—11 (1936). — Relation of environment and physical properties of synthetic growth substances to the growth reaction. Bot. Gaz. **100**, 200—213 (1938). — Limiting factors and growth inhibition in the growth of the avena coleoptile. Amer. J. Bot. **36**, 323—331 (1949). — Bonner, J., and Koepfli: The inhibition of root growth. Amer. J. Bot. **26**, 557—566 (1939). — Burström, H.: Studies on growth and metabolism of roots. IV. Positive and negative auxin effects on cell elongation. Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 277—292 (1950). — Clauss, H.: Kritische Untersuchungen über den Kressewurzeltest von Moewus. Z. Naturforsch. 7b, 112—117 (1952). — Commoner, D., and K. V. Thimann: On the relation between growth and respiration in the avena coleoptile. J. Gen. Physiol. **24**, 279—296 (1940). — Cramer, H.: Mathematical methods of statistics. Princeton University Press. 1946. — Fiedler, H.: Entwicklungs- und reizphysiologische Untersuchungen an Kulturen isolierter Wurzelspitzen. Z. Bot. **30**, 385—436 (1936). — Fisher, R. A., and F. Yates: Statistical tables. London: Oliver a. Boyd 1949. — Galston, A. W.: The effect of 2,3,5-trijodobenzoic acid on the growth and flowering of soy-beans. Amer. J. Bot. **34**, 356—360 (1947). — Geiger-Huber, M., u. E. Burlet: Über den hormonalen Einfluß der β-Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. Jb. wiss. Bot. **84**, 233—253 (1936). — Hellström, N.: An attempt to explain the interaction of auxin and antiauxin in root growth by an adsorption mechanism. Acta chem. scand. (København.) **7**, 461—468 (1953). — Kandler, O.: Über den Einfluß von 2,4-Dinitrophenol auf Wachstum und Atmung in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. 5b, 338—344 (1950). — Koepfli, J., K. V. Thimann and F. Went:

Phytohormones, Structure and activity. J. of Biol. Chem. **122**, 763—780 (1938). — Larsen, P.: Enzymatic conversion of indoleacetaldehyd and naphthalenacetaldehyd to auxins. Plant Physiol. **26**, 697—707 (1951). — Linser, H., and K. Kaindl: The mode of action of growth substances. Science (Lancaster, Pa.) **114**, 69—70 (1951). — Lundegårdh, H.: The growth of root hairs. Arch. of Bot. **33**, 1—19 (1946). — Moewus, F.: Bestimmung des Wuchs- und Hemmstoffgehaltes in Pflanzenextrakten. Züchter **1**, 108—115 (1948). — Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kressewurzel. Biol. Zbl. **68**, 58—72 (1949). — Der Kressewurzeltest, ein neuer, quantitativer Wuchsstofftest. Biol. Zbl. **68**, 118—140 (1949). — Muir, R. M., and C. Hansch: The relationship of structure and plant growth activity of substituted benzoicacid and phenoxyaceticacid. Plant Physiol. **26**, 359—366 (1951). — Overbeck, J. van, and R. Blondeau: Cis-cinnamic acid as an antiauxin. Amer. J. Bot. **38**, 589—593 (1951). — Paech, K.: Lokalisation von Enzymen in der Zelle. Z. Bot. **40**, 214—217 (1952). — Pohl, R.: Die Kressewurzel als Testobjekt für Wuchs- und Hemmstoffe. Z. Bot. **40**, 307—316 (1952). — Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum des Sprosses. Naturwiss. **40**, 110—111 (1953). — Pohl, R., u. G. Ochs: Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum der Wurzel. Naturwiss. **40**, 24—25 (1953). — Pregl, F.: Quantitative organische Mikroanalyse. Wien: Springer 1947. — Reinert, J.: Über den Wuchsstoffgehalt der Avena-Koleoptilspitze und die chemische Natur des extrahierbaren Auxins. Z. Naturforsch. **5b**, 374—380 (1950). — Wuchsstofftests. Z. Bot. **40**, 77—81 (1952). — Sweeney, B. M., and K. V. Thimann: The effect of auxins on the protoplasmic streaming. J. gen. Physiol. **25**, 841—854 (1942). — Thimann, K. V.: Auxins and growth of roots. Amer. J. Bot. **23**, 561—569 (1936). — The synthetic auxins: Relation between structure and activity. Plant growth substances. University Wisconsin Press, 21—35, 1950. — Thimann, K. V., and Bonner: Experiments on the growth inhibition of isolated plant parts. I. The action of jodoacetate and organic acids on the avena coleoptile. Amer. J. Bot. **36**, 271—281 (1948). — Experiments on the growth inhibition of isolated plant parts. II. The action of several enzyme inhibitors on the growth of the avena coleoptile and on pisum internodes. Amer. J. Bot. **36**, 214—221 (1949). — The action of tiba on growth. Plant Physiol. **23**, 158—161 (1949). — Veldstra, H.: Researches on plant growth substances. IV—V. Relation between structure and physiological activity. I—II. Enzymologia **11**, 97—136, 137—163 (1944). — Veldstra, H., and H. L. Booij: Researches on plant growth regulators. Biochem. et Biophysica Acta **33**, 278—312 (1949). — Waard, J. de, and P. A. Florschutz: On the interaction of 2,3,5-trijodobenzoicacid-IAA growth processes. Proc. Acad. Wetensch. Amsterd. **51**, 1317—1321 (1947). — Wurzschmitt, B., u. W. Zimmermann: Die Metallbombe als Hilfsmittel in der Elementaranalyse. 1950.

Dr. Gertrud Ochs, Bernkastel-Kues,
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Inst. f. Weinbau.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Ernst Gäumann**, Zürich, und **Otto Renner**, München.

Fünfzehnter Band: **Bericht über das Jahr 1952.** Mit 34 Abbildungen. IV, 549 Seiten Gr.-8°. 1954. DM 62.80

Inhaltsübersicht: **Morphologie: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — **Morphologie einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. (Folgt in Band 16.) — **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung.** Von Professor Dr. O. Jaag, Zürich. (Folgt in Band 16.) — **Submikroskopische Morphologie.** Von Privatdozent Dr. K. Mühlethaler, Zürich. (Folgt in Band 16.) — **Systemlehre und Pflanzengeographie: a) Systematik und Stammesgeschichte der Pilze.** Von Dozent Dr. H. Kern, Zürich. (Folgt in Band 16.) **b) Systematik der Spermatophyta.** Von Professor Dr. K. Suessenguth, München. — **Paläobotanik.** Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — **Systematische und genetische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. (Folgt in Band 16.) — **Ökologie.** Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **Physiologie des Stoffwechsels: Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensprozesse.** Von Professor Dr. W. Simonis, Hannover. — **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. H.-J. Bogen, Marburg a. d. Lahn. — **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. B. Huber, München. — **Mineralstoffwechsel.** Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — **Stoffwechsel organischer Verbindungen I.** (Photosynthese.) Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg a. d. Lahn. (Folgt in Band 16.) — **Stoffwechsel organischer Verbindungen II.** Von Professor Dr. K. Paech, Tübingen. — **Physiologie der Organbildung: Vererbung. a) Genetik der Mikroorganismen.** Von Professor Dr. H. Marquardt, Freiburg i. Br. (Folgt in Band 16.) — **b) Genetik der Samenpflanzen.** Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Riehl. — **Cytogenetik.** Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. (Folgt in Band 16.) — **Wachstum und Bewegung.** Von Professor Dr. H. v. Guttenberg, Rostock. — **Entwicklungsphysiologie.** Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles (Calif.). — **Viren. a) Pflanzenpathogene Viren.** Von Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig. — **b) Bakteriophagen.** Von Dr. W. Weidel, Tübingen. — **Sachverzeichnis.**

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Angewandte Pflanzensoziologie

Veröffentlichungen des Instituts für angewandte Pflanzensoziologie des Landes Kärnten. Herausgeber: Universitätsprofessor Dr. **Erwin Aichinger.**

Heft 5:

Die Rotbuchenwälder als Waldentwicklungstypen

Ein forstwirtschaftlicher Beitrag zur Beurteilung der Rotbuchenwälder. Von Universitätsprofessor Dr. **Erwin Aichinger.** Mit 17 Textabbildungen. 106 Seiten Gr.-8°. 1952. Steif geheftet DM 6.80

Heft 6:

Rotföhrenwälder als Waldentwicklungstypen

Ein forstwirtschaftlicher Beitrag zur Beurteilung der Rotföhrenwälder. Von Universitätsprofessor Dr. **Erwin Aichinger.** Mit 18 Textabbildungen. 68 Seiten Gr.-8°. 1952. Steif geheftet DM 5.20

Heft 7:

Fichtenwälder und Fichtenforste als Waldentwicklungstypen

Ein forstwirtschaftlicher Beitrag zur Beurteilung der Fichtenwälder und Fichtenforste. Von Universitätsprofessor Dr. **Erwin Aichinger.** Mit 62 Textabbildungen. 179 Seiten Gr.-8°. 1952. Steif geheftet DM 12.—

Heft 8:

Der Schluchtwald und der Bach-Eschenwald

Von **Johannes** und **Margarete Bartsch.** Mit 2 Abbildungen und 1 Karte. 110 Seiten Gr.-8°. 1952. Steif geheftet DM 7.20

Heft 9:

Die Trockenrasen im Naturschutzgebiet auf der Perchtoldsdorfer Heide bei Wien

Eine soziologische Studie von **G. Wendelberger,** Wien. Mit 1 Planskizze und 1 Tabelle als Beilage. IV, 51 Seiten Gr.-8°. 1953. Steif geheftet DM 3.30

Heft 10:

Gleichbedeutende Namen (Synonyme) der Pflanzen Österreichs

Von Univ.-Professor **E. Janchen,** Wien. III, 110 Seiten Gr.-8°. 1953. Steif geheftet DM 6.60

Heft 11:

Der Einfluß verschiedener Düngungsmaßnahmen auf die Bodenfauna

Von Hochschulprofessor Dr.-Ing. **Herbert Franz,** Wien. Mit 11 Tabellen. IV, 50 Seiten Gr.-8°. 1953. Steif geheftet DM 3.30

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Diesem Heft liegt ein Prospekt des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.